

Anna-Leena Suuronen

Viljelyautomaatilla ja manuaalisesti suoritettun bakteeriviljelyn vertailututkimus

Metropolia Ammattikorkeakoulu

Bioanalyttikko (AMK)

Sosiaali- ja terveysala

Opinnäytetyö

20.10.2013

Tekijä Otsikko Sivumäärä Aika	Anna-Leena Suuronen Viljelyautomaatilla ja manuaalisesti suoritettun bakteeriviljelyn vertailututkimus 29 sivua + 8 liitettä 20.10.2013
Tutkinto	Sosiaali- ja terveysalan ammattikorkeakoulututkinto, Bioanalyytikko (AMK)
Koulutusohjelma	Bioanalytiikan koulutusohjelma
Suuntautumisvaihtoehto	Bioanalytiikka
Ohjaajat	Klininen asiantuntija Risto Hilla Lehtori Tuula Kurkinen
<p>Tutkimuksen keskeisin tarkoitus oli selvittää kvantitatiivisen virtsaviiljelyn toistettavuutta WASP®-viljelyautomaatilla sekä manuaalisesti suoritettujen viljelyiden osalta. Tutkimuksella selvitettiin eroavatko viljelyiden tulostasot toisistaan ja haettiin tukea olettamukseen, että viljelyautomaatti on käsin viljelyä toistettavampi. Työ tehtiin HUSLABin klinisen mikrobiologian laboratorion bakteriologisella osastolla.</p> <p>Tutkimusaineistona oli 50 virtsanäytettä, jotka oli valikoitu potilasnäytteiden joukosta bakteeripesäkkeiden määrän ja bakteerikasvuston puhtauden perusteella. Virtsanäytteiden lisäksi tutkimuksessa tutkittiin neljää tyypillistä virtsatieinfektion aiheuttavaa bakteerilajia. Mukaan valikoitui kokki- ja sauvabakteereita sekä virtsanäytteistä että bakteerilajeista valmistetuista näytteistä. Kaikista tutkimuksen näytteistä tehtiin viisi rinnakkaismittausta ja ne viljeltiin viljelyautomaatilla sekä manuaalisesti 1-4:n eri viljelijän toimesta. Bakteeripesäkkeet laskettiin elatusainemaljoilta. Niiden perusteella laskettiin keskiarvot, keskihajonnat, suhteelliset hajonnat sekä minimi- ja maksimiarvot. Viljelyautomaatin ja manuaalisten viljelyiden tuloksien yhteneväisyyttä verrattiin toisiinsa. Lisäksi verrattiin eri viljelijöiden viljelemien näytteiden tuloksia toisiinsa, sekä kokki- ja sauvabakteereiden tuloksia viljelyautomaatilla ja manuaalisesti viljeltyinä.</p> <p>Tulosten perusteella viljelyautomaatti tekee virtsanäytteissä toistettavampaa tulosta kuin manuaalisesti suoritettu viljely. Viljelyautomaatin viljelemien virtsanäytteiden pesäkkeiden tulostaso on korkeampi kuin manuaalisesti viljellyissä virtsanäytteissä. Bakteerilajeista valmistettujen näytteiden kohdalla erot eivät olleet yhtä selkeitä viljelyautomaatilla viljeltyjen ja manuaalisesti viljeltyjen näytteiden välillä. Manuaalisesti viljelyä suorittaneiden henkilöiden viljelemien näytteiden tulosten toistettavuus erosi yhden viljelijän osalta muista viljelijöistä.</p> <p>Tutkimuksen tulosten mukaan viljelyautomaattia kannattaa edelleen hyödyntää bakteeriviljelyissä, koska se tekee toistettavampia tuloksia ja onnistuu todennäköisesti poimimaan näytteestä manuaalisesti suoritettua viljelyä enemmän bakteeripesäkkeitä elatusainemaljalle.</p>	
Avainsanat	viljelyautomaatti, virtsaviiljely, toistettavuus, viljelytekniikka

Author Title Number of Pages Date	Anna-Leena Suuronen A Comparative Study of Automated and Manual Inoculation 29 pages + 8 appendices 20 October 2013
Degree	Bachelor of Health Care
Degree Programme	Biomedical Laboratory Science
Specialisation option	Biomedical Laboratory Science
Instructors	Risto Hilla, Clinical Expert Tuula Kurkinen, Senior Lecturer
<p>The main purpose of this study was to find out the reproducibility of urine inoculation made manually and by the WASP[®] automated inoculation instrument. Study was used to find out if the results differed from one another and the assumption that the automatic inoculation would be more reproducible than manual. This study was conducted at the HUSLAB Clinical Microbiology Laboratory, Helsinki, Finland.</p> <p>The study material consisted of 50 urine samples, which were selected from among the patient samples based on quantity of bacterial colonies and purity of bacterial growth. In addition to the urine samples, suspensions for the analysis were prepared from four typical urinary tract infection causing strains. Both coccus and bacillus bacteria were selected from the urine samples as well as the samples processed from the bacterial strains. Five parallel measurements were made on the samples, and they were inoculated automatically and manually by 1 to 4 technicians. Bacterial colonies were calculated for agar plates. They were calculated on the basis of averages, standard deviations, coefficient of variation and minimum and maximum values. The consistency of the automatic and manual inoculation results were compared with each other. In addition, the samples inoculated by the technicians were compared to each other as well as coccus and bacillus bacteria inoculated by the WASP[®] automated inoculation instrument and manually.</p> <p>The results showed that the WASP[®] automated inoculation instrument gave more reproducible results of the urine samples than manually carried out inoculation. The WASP[®] automatic incubation result level was higher than manual urine cultures. However, the differences were not seen as clearly between automated and manually inoculated samples, in the samples produced from bacterial strains. The reproducibility of the results of the manual inoculation differed from one technician to the other technician.</p> <p>The results lead to the conclusion that one should continue to take the advantage of the WASP[®] automated inoculation instrument on bacterial inoculation, because it gives more reproducible results and it is likely to pick up more bacterial colonies on agar plate than inoculation performed manually.</p>	
Keywords	automated inoculation instrument, urine culture, reproducibility, culture technique

Sisällys

1	Johdanto	1
2	Virtsaviljelytekniikat ja käytetyt bakteerikannat	2
2.1	Virtsan kvantitatiivinen bakteeriviljely	2
2.2	Näytteen viljely WASP®- viljelyautomaatilla	3
2.3	Tulosten tulkinta	5
2.4	Käytetyt bakteerikannat	6
3	Aikaisemmat tutkimukset	7
4	Tutkimuksen tarkoitus ja tavoitteet	9
5	Työn toteutus	10
5.1	Esitutkimus	10
5.2	Tutkimusaineisto	11
5.3	Tutkimus	12
6	Tulokset	14
6.1	Virtsanäytteet	15
6.2	Bakteerikantanäytteet	20
7	Tulosten tarkastelu ja johtopäätökset	22
8	Pohdinta	25
8.1	Tutkimuksen luotettavuuden arviointi	26
8.2	Tutkimuksen eettisyys	27
8.3	Lopuksi	28
	Lähteet	30

Liitteet

Liite 1. Virtsanäytteiden viivakaaviot

Liite 2. Bakteerikantanäytteiden viivakaaviot

Liite 3. Virtsanäytteiden keskiarvot, keskihajonnat ja variaatiokertoimet

Liite 4. Bakteerikantanäytteiden keskiarvot, keskihajonnat ja variaatiokertoimet

Liite 5. Virtsanäytteiden alkuperäiset pesäkemäärät sekä viljelyiden minimi- ja maksimi-arvot

Liite 6. Kahden riippuvan otoksen vertailutestit (t-testit)

Liite 7. Virtsanäytteiden mittaustulokset

Liite 8. Bakteerikantanäytteiden mittaustulokset

1 Johdanto

Näytteiden viljely on yksi tärkeimmistä vaiheista bakteriologisessa laboratoriodiagnostiikassa. Se muodostaa perustan bakteriologisille tutkimuksille, joita tarvitaan mahdollisen infektiotaudin ja siihen mahdollisesti liittyvän bakteerilajin selvittelyssä. (Carlson – Koskela 2011: 37, 39, 40–41.) Mikään yksittäisiä bakteereja tunnistava, spesifinen testi ei korvaa bakteeriviljelyä bakteriologisessa laboratoriodiagnostiikassa (Vuento – Vuopio 2010: 58). Bakteereiden aiheuttamat infektiot ovat bakteerilääkkeillä hoidettavia, joten bakteriologisten tutkimusten tulokset ovat käyttöarvoltaan sitä suurempia mitä nopeammin ne ovat kliinikon käytettävissä. Näyte pitää viljellä, jotta tutkittavan bakteerin ominaisuuksia on helpompi tarkastella käyttäen erilaisia tunnistustestejä. Myös bakteerin mikrobilääkeherkkyys voidaan tarkastaa viljellyistä kannoista. (Carlson – Koskela 2011: 37, 40.)

Työ tehtiin HUSLABin kliinisen mikrobiologian vastualueen bakteriologian osastolle. Osastolla viljellään manuaalisesti paljon näytteitä. Viljelyautomaatti on tuonut apua työmäärään. Sitä käytetään nestekuljetusputkessa tuleville näytteille MRSA-, nielun streptokokki- ja virtsan bakteeriviljelytutkimuksissa.

Tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää manuaalisesti suoritettua virtsaviljelyä ja WASP®-viljelyautomaatilla suoritettua virtsaviljelyä toistettavuutta kvantitatiivisessa virtsaviljelyssä. Tämän lisäksi selvitettiin, onko viljelyautomaatilla ja manuaalisesti viljeltyissä näytteissä tulostasoissa eroa. Toistettavuutta testattiin 1 µl:n viljelysilmukalla laboratorion omassa toimintaympäristössä. Yhteyshenkilönä työelämässä toimi HUSLAB:n bakteriologisen osaston kliininen asiantuntija Risto Hilla ja ohjaavana opettajana lehtori Tuula Kurkinen.

Toistettavuudella tarkoitetaan täsmällisyyttä, joka saavutetaan kun määrittäminen tehdään samalla menetelmällä ja toistettavissa olosuhteissa (Fortelius 2001). Oletus oli, että viljelyautomaatti on toistettavuudeltaan käsin viljelyä parempi menetelmä (Bourbeau - Swartz 2009; Glasson – Guthrie – Nielsen - Bethell 2008).

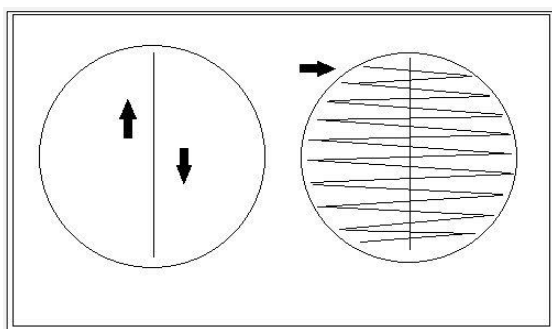
2 Virtsaviljelytekniikat ja käytetyt bakteerikannat

Yksi yleisimmin käytetty bakteeriviljely on virtsaviljely. Virtsaviljelyn tarkoituksena on löytää virtsatieinfektiota aiheuttavia bakteereita eli uropatogeeneja elatusainemaljalta. (Vuento – Vuopio 2010: 58; Labqualityn asiantuntijasuositus 1999: 19.)

2.1 Virtsan kvantitatiivinen bakteeriviljely

Virtsan kvantitatiivisessa bakteeriviljelyssä näytettä otetaan virtsanäyteputkesta steriilillä silmukalla 1 µl, joka siirrostetaan elatusainemaljalle. Malja siirretään lämpökaappiin +37 asteeseen vuorokaudeksi kasvamaan. Vuorokaudessa bakteerit ehtivät kasvaa riittävästi, jotta ne havaitaan maljalla. Bakteerien määrä ilmoitetaan millilitrassa (ml) virtsaa. (Mustajoki – Kaukua 2008.) Virtsan bakteeriviljelyssä viljelysilmukka tulee kastaa kohtisuoraan virtsaan, jolloin se ottaa silmukkaan juuri oikean määrän virtsaa (Labqualityn asiantuntijasuositus 1999: 44; Baron – Peterson - Finegold 1994: 255). On siis tärkeää kastaa vain viljelysilmukan silmukkaosa näytteeseen oikean tilavuuden aikaan saamiseksi.

Kuviossa 1 on esitetty virtsaviljelyn tekniikka, jossa elatusainemaljan keskelle vedetään ensin viljelysilmukalla poikkiviiva ja sitten kohtisuoraan ensimmäiseen vetoon nähden tehdään tiheä siksak-levitys koko maljan leveydeltä. (Labqualityn asiantuntijasuositus 1999: 44.)



Kuvio 1. Virtsaviljelyn tekniikka (Mukaillen Labqualityn asiantuntijasuositus 1999:44).

Virtsaviljelyt viljellään Suomessa yleisimmin CLED-maljoille (cystine-lactose-electrolyte-deficient) (Labqualityn asiantuntijasuositus 1999: 46). HUSLABin bakteriologian laboratorio käyttää laboratorion sisällä virtsaviljelyihin kromogeenisia värimaljoja (CHROMagar Orientation).

HUSLAB käyttää Cled-maljoja virtsanäytteiden viljelyyn, jos ne viljellään bakteriologisen laboratorion ulkopuolella (HUSLAB 2011). Tutkimukseen valikoituneet bakteerikannat kasvavat kaikki hyvin CLED-maljoilla (Labqualityn asiantuntijasuositus 1999: 46; BD 2006). *E. coli* fermentoi laktoosia, joten sen pesäkkeiden ympärillä pH-indikaattorin väri muuttuu keltaiseksi (Carlson – Koskela 2011:41).

2.2 Näytteen viljely WASP®- viljelyautomaatilla

Walk Away Specimen Processor eli WASP® (kuvio 2) on Copan Diagnostic®:n markkinoille tuoma viljelyautomaatti, joka on tarkoitettu nestemäisten näytteiden viljelyyn. Siinä on kaksi robottikättä, joista toinen tuo viljeltävän maljan viljeltäväksi ja toinen suorittaa varsinaisen viljelyn. Viljelyyn on käytössä kolme metallista silmukkaa, tilavuuksiltaan 1 µl, 10 µl ja 30 µl. (Bourbeau ym. 2009.)



Kuvio 2. WASP®-viljelyautomaatti (Copan Diagnostics 2012).

Viljelyautomaatin ohjaus tapahtuu tietokoneohjelmalla, mutta sitä voi ohjata myös manuaalisesti. Automaatti tunnistaa näytteen viivakoodin perusteella ja hakee näytetiedot laboratorion tietojärjestelmästä (LIS= Laboratory Information System). Viivakooditarran on oltava ehjä ja oikeassa kohdassa. Näytteet asetetaan näytetelineisiin joista viljelyautomaatti ottaa käsittelyyn näytteet aina tietyssä järjestyksessä. Jos viivakooditarra on huonosti tai jos putkessa on liian vähän näytettä, laite siirtää näytteen hylätyjen näytteiden koriin. (WASP® Manuaali: 13, 20–21, 57.) Opinnäytetyössä käytettiin potilasnäytteitä, joissa oli viivakooditarrat valmiina. Bakteerilajeista valmistetuille näytteille tulostettiin viivakooditarrat.

Laitteelle on määritetty protokollaan tietyt toiminnot, jotka se osaa valikoida näytekohtaisesti. Se käyttää esimerkiksi käyttäjän valitsemaa siirrostuskuviota ja silmukkakokoa. (WASP® Manuaali:14.) Protokollalla tarkoitetaan kahden järjestelmän välistä kommunikointitapaa. Se siis mahdollistaa ja määrittelee laitteen ja ohjelman välisen yhteyden (Suomisanakirja 2013).

Kun viljelyautomaatti on kastanut viljelysilmukan näytteeseen, se valokuvaa silmukan varmistaen, että siinä on näytettä. Se tekee valitun viljelykuvion ja lajittelee viljellyt maljat niille määritettyihin luokkiin ja lopuksi steriloi silmukan uunissa. (WASP® Manuaali: 10.) Silmukan steriloinnin lisäksi viljelyautomaatti voidaan ohjelmoida tekemään automaattinen silmukanpesu, kun tietty määrä maljoja on käsitelty kyseisellä silmukalla. (WASP® Manuaali: 81). Pesun tarkoituksena on saada steriloinnissa silmukkaan kiinni palanut aine pois. Opinnäytetyötä varten silmukanpesua ei muutettu, vaan silmukka pestiin yhtä usein kuin potilasnäytteiden kohdalla.

WASP®-viljelyautomaatissa on elatusainemaljakaruselli. Karusellissa on viisi silloa ja kuhunkin voidaan määritellä ja ladata erityyppisiä elatusainemaljoja. (WASP® Manuaali: 17.) Opinnäytetyötä varten karuselliin määriteltiin paikat CLED-maljoille. Viljelyautomaatille tehtiin myös ohjelmat opinnäytetyön virtsa- sekä bakteerikantanäytteitä varten.

HUSLABin bakteriologian laboratoriossa käytössä olevaan viljelyautomaattiin on optimoitu tietty hajotuskuvio jokaiselle näytemateriaalille, jolla viljelyt suoritetaan. WASP®-viljelyautomaatin protokollaan kuuluu tietty määrä laitevalmistajan puolelta ohjelmoituja hajotuskuvioita. Bakteriologian laboratoriossa käytetyt hajotuskuviot on valikoitu laitevalmistajan ohjelmoimista hajotuskuvioista laitteen käyttöönnoton yhteydessä suoritettu-

jen testausten perusteella (Hilla 2013). Tutkimuksessa käytettiin virtsanäytteille tarkoitettua hajotuskuviota, joka mukailee manuaalista viljelytekniikkaa (ks. kuvio 1).

2.3 Tulosten tulkinta

Virtsaviljelytulosten tarkastelussa kiinnitetään huomiota puhtaaseen bakteerikasvustoon eli siihen, että maljalla kasvaa vain yhtä lajia. (Bannister - Begg - Gillespie 2000: 218.) Virtsanäytteissä esiintyy paljon sekaflooraa, koska näytteen otossa virtsaputken suun runsas mikrobisto voi helposti kontaminoida näytteen (Bannister ym. 2000: 216). Kun maljalle on viljelty 1 µl virtsaa, tarkoittaa yksi bakteeripesäke maljalla 1000 bakteeripesäkettä millilitrassa virtsaa (10^3) Viljellyn maljan tarkastelun ja bakteerimäärän perusteella voidaan siis päätellä tuloksen merkitys. (Mustajoki – Kaukua 2008; Labqualityn asiantuntijasuositus 1999: 45.)

HUSLABin bakteriologian laboratoriossa virtsanäytteille tehdään ensin seulontatutkimus (U-baktVi), jossa näytteistä etsitään virtsatietulehduksen aiheuttajia. Jos maljalla kasvaa kolme pesäkettä tai yli, lähettäminen jatkoviljelyyn arvioidaan voimassa olevan ohjeistuksen perusteella tapauskohtaisesti. Arviointiin vaikuttaa muun muassa rakkoai-ka. Jos maljalla kasvaa alle kolme pesäkettä, löydökset vastataan HUSLABin ohjeistuksen mukaan sekafloorana. (HUSLAB 2011.) Kun maljalla kasvaa useita erilaisia bakteeripesäkkeitä, on kyseessä luultavasti näytteen annon yhteydessä tapahtunut kontaminaatio (Mustajoki – Kaukua 2008). Kuitenkin jos maljalla kasvaa kahta lajia yhtä paljon tai jos yksi laji on selvästi ylitse muiden ja pesäkkeitä on yli 10 kappaletta (yli 10^4 ml), lähetetään näyte jatkoviljelyyn. (Labqualityn asiantuntijasuositus 1999: 20; Hilla 2013.) Jatkoviljelyssä (U-baktJVi) bakteerit tunnistetaan biokemiallisilla testeillä laji-, suku- tai ryhmätasolle, mutta ne voidaan vastata myös sekafloorana (HUSLAB 2011).

Kun bakteeripesäkkeitä kasvaa maljalla puhtaana yli 10 kappaletta, pidetään tulehdusta ilmeisenä. Pienempi määrä bakteeria voi myös olla merkitsevä löydös, koska kyseessä saattaa olla esimerkiksi mikrobilääkehoitoa saanut potilas tai liian lyhyt rakkoai-ka näytettä annettaessa. (Mustajoki – Kaukua 2008.) Tällöin näytteelle tehdään lajitun-nistus, mutta vastauksessa mainitaan bakteerin nimen lisäksi se, että bakteerikasvu oli erittäin niukkaa ja näin ollen sillä tuskin on kliinistä merkitystä (Hilla 2013). Jos baktee-reita kasvaa maljalla 10–100 kappaletta, vastataan se 10^4 - 10^5 bakteeria/ml. Jos bak-

teeripesäkkeitä on yli 100 kappaletta, vastaus on yli 10^5 bakteeria/ml. (HUSLAB 2011; Labqualityn asiantuntijasuositus 1999: 45.)

Tunnistustesti tehdään suoraan elatusainemaljalta. Virtsanäyte voidaan viljellä myös kromogeeniselle elatusainemaljalle, jolloin bakteerilaji voidaan tunnistaa värireaktion perusteella. Elatusaineeseen on lisätty kromogeeninen substraatti. Maljalla kasvava bakteeri tuottaa substraattia hajottavaa entsyymiä, jolloin substraatissa kiinni oleva väriaine vapautuu ja bakteeripesäke värjäytyy. Bakteerin substraattia hajottava entsyymi on lajispesifinen. Virtsaviljelyssä kromogeeniselta primääriviljelymaljalta on mahdollista tunnistaa suoraan *E. coli* lajitasolle ja enterokokki sukutasolle. (Peltola 2010.) Toinen tyypillinen tunnistustesti on käyttää MALDI-TOF massaspektrometria (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight MS) Tutkimuksessa viljeltyjen virtsanäytteiden bakteerilajit oli pääosin tunnistettu MALDI-TOF:lla laboratoriohoitajien toimesta.

Usein bakteerit voidaan alustavasti tunnistaa pesäkkeen ulkonäön, laktoosireaktion ja kasvuominaisuuksien mukaan. Lisäksi niille voidaan tehdä esimerkiksi gram-värjäys sekä kemiallisia testejä, kuten oksidaasi-tai katalaasitesti (Labqualityn asiantuntijasuositus 1999: 47–48.)

2.4 Käytetyt bakteerikannat

Tutkimuksessa viljeltiin virtsanäytteiden lisäksi bakteerilajeista valmistettuja näytteitä. Bakteerikantoina käytettiin ATCC-vertailukantoja (American Type Culture Collection).

ATCC-kantoja käytetään laboratorioissa menetelmien validointiin sekä sisäiseen laadunhallintaan. Niillä voidaan varmentaa tulosten luotettavuus ja toistettavuus. Vertailukantoja voidaan nimittää myös referenssi- tai kontrollikannoiksi. (Mikrobiologiset vertailukannat 2005: 9, 11.) Valikoidut bakteerilajit ovat tyypillisiä virtsatieinfektioissa esiintyviä bakteereita, jotka eivät ole kasvuolosuhteiltaan vaativia. Ne ovat:

- *Escherichia coli*
- *Staphylococcus saprophyticus*
- *Enterococcus faecium*
- *Pseudomonas aeruginosa*

E.colin aiheuttamista infektiosta virtsatieinfektio on tavallisin (Siitonen – Vaara 2010: 178). Kaksi kolmannesta virtsatieinfektioista on *E. colin* aiheuttamia (Bannister ym. 2000: 220).

S. saprophyticus on yksi koagulaationegatiivisista stafylokokkeista. Se on yleinen löydös varsinkin nuorten, seksuaalisesti aktiivisten naisten virtsasta. (Lumio 2011.)

Enterokokit muodostavat suuren osan ihmisen suolen normaalista mikrobistosta (Rantakokko-Jalava – Anttila 2010: 126). *Enterococcus faecalis* ja *E. faecium* muodostavat hallitsevan osan kaikista enterokokeista joita viljellään potilaista (Fraser 2012). Enterokokkien osuus virtsatieinfektioista on 5-10 % (Rantakokko-Jalava – Anttila 2010: 126).

Pseudomonas aeruginosa on kasvuvaatimuksiltaan vaatimaton, gram-negatiivinen sauvabakteeri. Se on opportunisti infektioiden aiheuttajana ja infektiolle altistavana tekijänä on sairaalahoito. *P. aeruginosan* aiheuttama virtsatieinfektio esiintyy usein virtsateiden tukkeen yhteydessä sairaalapotilailla. (Tissari – Anttila 2010: 200–201.)

3 Aikaisemmat tutkimukset

Aikaisempiin tutkimuksiin tutustuttiin ennen tutkimuksen aloitusta ja osittain sen aikana. Aikaisemmista tutkimuksista haluttiin saada tietoa miten viljelyautomaatin ja manuaalisten viljelyiden eroa on aikaisemmin vertailtu. Aikaisempia tutkimuksia hyödynnettiin havainnoimalla tutkimusasetelmia ja lopputuloksia.

Bourbeau ja Swartz julkaisivat ensimmäisen arvion WASP[®]-viljelyautomaatin toistettavuudesta ja bakteereiden siirtymästä vuonna 2009. He vertasivat myös viljelyautomaatin suorittamia rikastusviljelyjä manuaaliseen viljelyyn eri silmukkakoolla (1 µl ja 10 µl). Tutkimuksessa käytettiin verrokina Dynacon Inoculab[®] LQH- viljelyautomaattia. Toistettavuustestauksessa käytettiin 300 virtsanäytettä molemmilla silmukoilla. Näytteet viljeltiin rinnakkaisina. Siirtymätestauksessa käytettiin steriilejä ja epästeriilejä näytteitä vuoron perään. Siirtymää ei tapahtunut, koska steriilit näytteet pysyivät steriileinä. Viljelyautomaatit antoivat yhteneviä tuloksia rinnakkaisnäytteistä. Tutkimuksen mukaan viljelyautomaatit olivat korkealuokkaisia toistettavuudessa. Maljalle saatujen erillispesäkkeiden määrä oli myös viljelyautomaateilla viljellyissä maljoissa korkeampi kuin

manuaalisesti viljellyissä. 10 µl silmukaviljely rikastusviljelyissä vastasi parhaiten käsin viljeltyjen maljojen tasoa. (Bourbeau ym. 2009.) Bakteerien siirtymän testauksesta opinnäytetyössä luovuttiin, koska ei ollut syytä epäillä viljelyautomaatin toiminnassa tapahtuvaa siirtymää näytteestä toiseen.

Glasson ym. tutkivat vuonna 2008 MicroStreak®-viljelyautomaatin viljelyn laatua. Lab-Tech Systemsin MicroStreak®-viljelyautomaatti levittää näytteen maljalle näytekammalla pyörivällä liikkeellä Previ-Isola®-viljelyautomaatin tapaan. Tutkimuksessa selvitettiin automaatin kykyä jakaa bakteerisuspensiot maljoille ja levittää ne, sekä kierrosnopeuden vaikutusta suspension levittymiseen elatusainemaljan pinnalle. Tutkimusaineisto sisälsi virtsanäytteitä 500 kappaletta. Tässä tutkimuksessa viljelyautomaatti todettiin toistettavuudeltaan hyväksi sekä sen kyky erotella pesäkkeitä maljalla manuaalista viljelyä paremmaksi. Virtsanäytteiden, joiden pitoisuus oli yli 10^5 CFU/ml, kohdalla pesäkkeet jakaantuivat maljalla tasaisemmin viljelyautomaatin viljelemänä kuin manuaalisesti viljellyillä maljoilla. Julkaisussa todetaan lisätutkimuksen tarpeellisuus kierrosnopeuden selvittämisen osalta, mutta suositellaan virtsanäytteille, joissa suurella todennäköisyydellä kasvaa 10^5 tai yli CFU/ml (colony forming units/ml), 50 rpm kierrosnopeutta viljelyyn. Tutkimuksessa automaatti viljeli virtsanäytettä maljalle 10 µl, manuaaliviljelyssä käytetyn 1 µl:n sijaan. Tutkimuksessa ei testattu eri kierrosnopeuksien vaikutusta toistettavuuteen. (Glasson ym. 2008.)

Greub ja Prod'hom vertailivat vuonna 2011 eri valmistajien viljelyautomaatteja. Tutkimuksessa olivat mukana WASP® (Copan), Previ-Isola® (BioMerieux), Innova® (Becton-Dickinson) sekä Inoqula® (KIESTRA). Näistä Previ-Isola® sekä Inoqula® saivat aikaan manuaaliviljelyä enemmän erillispesäkkeitä maljalle, mutta muita viljelyautomaatteja ei testattu näytteen maljalle levittämisen osalta tässä tutkimuksessa. Tutkimuksen lähtökohtana on ollut bakteriologisten laboratorioiden tarve automaatiolle ja toisaalta haaste valita viljelyautomaatti, joka vastaa tietyn laboratorion tarpeita. (Greub - Prod'hom 2011.)

WASP®-viljelyautomaatin luotettavuutta tutki vuonna 2011 Hollantilainen tutkimusryhmä. Tutkimuksen tulokset esiteltiin samana vuonna Italiassa ESCMIDn (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Disease) kongressissa. Tutkimuksessa oli mukana 218 virtsanäytettä muiden näytteiden lisäksi. Tutkimuksen mukaan WASP®-viljelyautomaatilla viljellyillä maljoilla kasvoi useammin enemmän bakteeripesäkkeitä ja

bakteerilajeja kuin manuaalisesti viljellyissä näytteissä. Ero ilmeni pääasiassa virtsanäytteiden kohdalla. (Bierma – van Bree – van de Ten – Liebregts – Arents 2011.)

4 Tutkimuksen tarkoitus ja tavoitteet

Tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää virtsaviljelyiden toistettavuutta laboratorion omassa ympäristössä manuaalisesti ja WASP[®]-viljelyautomaatilla. Tutkimuksella haettiin varmistusta olettamukseen, että viljelyautomaatti on manuaalista viljelyä toistettavampi.

Tällä hetkellä laboratoriohoitaja viljelee yhden näytteen nopeammin kuin viljelyautomaatti (Hilla 2013). Manuaalinen viljely on kuitenkin ergonomisesti kuormittava, monotoninen työvaihe. Jos viljelyautomaatti osoittautuu manuaalista viljelyä toistettavammaksi, voidaan sen käyttöä pitää edelleen perusteltuna bakteriologisessa laboratoriossa.

Tutkimus on kvantitatiivinen tutkimus, jonka tarkoituksena on koota tietoa numeerisesti mitatuista havainnoista. Päätelmien teko perustuu tilastolliseen analysointiin. (Hirsjärvi - Remes - Sajavaara 2005: 130–131.) Työn tutkimuskysymykset ovat:

1. Millainen on manuaalisesti suoritettun ja WASP[®]-viljelyautomaatilla suoritettun virtsaviljelyn toistettavuus 1 µl:n viljelysilukalla kvantitatiivisessa virtsaviljelyssä?
2. Onko viljelyiden tulostasoissa eroa?

Lisäksi tutkimuksella pyritään saamaan vastaukset seuraaviin kysymyksiin:

3. Eroavatko manuaalisesti suoritettut viljelyt pesäkemääriltään WASP[®]-viljelyautomaatilla suoritetuista viljelyistä?
4. Eroavatko tulokset manuaalisesti näytteitä viljeleiden henkilöiden kesken?
5. Eroavatko tulokset kokki- ja sauvabakteerien kohdalla?

Tutkimuksen tavoitteena on saada luotettavaa tietoa manuaalisesti suoritettun ja WASP[®]-viljelyautomaatin suorittaman virtsaviljelyn reliabiliteetista sekä todentaa vilje-

lyautomaatin suorittaman bakteeriviljelyn kyky antaa ei-sattumanvaraisia tuloksia eli sen luotettavuus.

Reliabiliteetti tarkoittaa sitä, miten luotettavasti ja toistettavasti käytetty menetelmä mittaa haluttua ilmiötä. Sitä voidaan arvioida esimerkiksi toistomittauksilla ja se tarkoittaa nimenomaan mittauksen toistettavuutta, ei sattumanvaraisuutta. Reliabiliteettia voidaan tarkastaa eri näkökulmien kautta. Yhdenmukaisuus tarkoittaa sitä miten eri indikaattorit mittaavat samaa asiaa. Tarkkuudella tarkastetaan instrumentin tarkkuus, eli toistuvan ilmiön havainnointitarkkuus. Myös ilmiön jatkuvuutta ja sitä, kuinka muut ymmärtävät tutkimusmenetelmän tarkoituksen, tulisi tarkistaa. Reliabiliteetin arviointia varten on käytössä erilaisia menetelmätapoja (Hiltunen 2009.) Tutkimuksessa käytettiin rinnakkaistestimenetelmää sekä retestausta eli toistomittauksia. Rinnakkaistestimenetelmässä verrataan manuaalisesti ja koneellisesti viljeltyjen näytteiden korrelaatiota.

5 Työn toteutus

Käytännön osuus suoritettiin kesä-heinäkuussa 2013. Tutkimuksessa viljeltiin virtsanäytteitä ja bakteerilajeista valmistettuja näytteitä. Virtsanäytteitä ajettiin viljelyautomaatilla usean viikon ajan pienissä erissä, jolloin varsinaisten potilasnäytteiden viljely ei häiriintynyt. Bakteerikantanäytteet viljeltiin yhden päivän aikana. Viljelyissä käytettiin huoneenlämpöisiä CLED-elatusainemaljoja.

5.1 Esitutkimus

Ennen tutkimuksen suorittamista testattiin esitutkimuksen avulla mukaan otettavia työtapoja ja itse tutkimusasetelmaa. Esitutkimuksessa testattiin kahta eri laimennosta kahdella kontrollibakteerikannalla. Laimennoksista valittiin se, jossa maljoilla kasvoi alle 100 pesäkettä. Valittua laimennosta testattiin vielä kahdella muulla kontrollibakteerikannalla. Lisäksi viljeltiin kaksi potilasnäytettä viljelyautomaatilla ja manuaalisesti, jotta saatiin varmuutta työtapoihin varsinaista tutkimusta ajatellen. Tutkimusnäytteet viljeltiin esitutkimuksen sekä varsinaisen tutkimuksen ajan 1 µl silmukalla.

Esitutkimuksessa näytteet viljeltiin ja käsiteltiin, kuten varsinaisessa tutkimuksessa oli tarkoitus tehdä. Bakteerien kasvua testattiin 1:1000 ja 1:10 000 laimennoksista. Lai-

mennoksista tehtiin elatusainemaljoille 1 µl silmukalla viljelyt. Viljelyt suoritettiin manuaalisesti ja viljelyautomaatilla. Bakteerien määrä laskettiin maljoilta. Esitutkimuksessa katsottiin että valitut bakteerilajit kasvoivat hyvin valitulla elatusainemaljalla ja että bakteerien kasvu oli maljalla tasaista. Alun perin tarkoituksena oli suorittaa viljelyt kahdesta eri laimennoksesta, jolloin kummastakin näytteestä olisi tehty kolme rinnakkaismittausta. Esitutkimuksen perusteella kuitenkin osoittautui, että laimennos 1:10 000 eli 10^{-4} oli bakteerimäärältään ihanteellinen tutkimukseen. Pesäkkeitä kasvoi tässä laimennoksessa maljalla tarpeeksi, mutta kuitenkin sen verran vähän että ne olivat laskettavissa. Esitutkimuksen perusteella päätettiin käyttää tutkimuksessa vain yhtä laimennosta ja lisätä rinnakkaismittausten määrää. Esitutkimuksen tulospaineistosta ei laskettu korrelaatiota viljelyautomaatilla ja käsin suoritettujen viljelyn välillä, eikä tulosten tilastollista eroavuutta. Esitutkimusaineiston perusteella oli ainoastaan tarkoitus selvittää tutkimukseen valikoituva laimennos sekä testata työtapoja ennen varsinaisen kokeellisen osan alkua.

5.2 Tutkimusaineisto

Opinnäytetyön tutkimusaineisto koostui 50 virtsanäytteestä, sekä neljästä bakteerilajista valmistetusta näytteestä. Käytetyt bakteerilajit olivat opinnäytetyön ohjaajan valitsemia. Näytteistä viljeltiin viisi rinnakkaista maljaa viljelyautomaatilla ja manuaalisesti. Virtsanäytteet oli valikoitu edellisenä päivänä viljeltyjen potilasnäytteiden joukosta pesäke- ja lajimäärän perusteella. Tutkimuksessa käytettyjen virtsanäytteiden bakteeripitoisuudet olivat 10^{3-4} CFU/ml ja 10^{4-5} CFU/ml. Näytteet oli säilytetty yön yli jääkaapissa (4°C). Jotkin tutkimuksessa käytetyistä virtsanäytteistä sisälsi enemmän kuin yhtä bakteerilajia. Alun perin tarkoituksena oli käyttää vain puhtaita kasvustoja. Muutamia seka-flooranäytteitä, sekä näytteitä, joissa kasvoi valtabakteerin lisäksi muita bakteereja pieninä pesäkkeinä, päätettiin kuitenkin testata mukana. Näin tutkimusaineistosta saatiin laajempi ja se ehdittiin koota kohtuullisessa ajassa.

Bakteerikannoista tehtiin laimennetut suspensiot mukaan tutkimukseen. Lähtömateriaalin laimentamisen tarkoituksena on saada maljalle kasvamaan erillisiä pesäkkeitä, jolloin lajien tunnistaminen onnistuu parhaiten (Carlson – Koskela 2011:41). Bakteerisuspensiot tehtiin esitutkimuksessa valikoituneen laimennoksen mukaan. Bakteerisuspension lähtökohtana oli niin sanottu turbiditeettistandardi eli McFarland. Lähtökohdan tuli vastata standardin 1:2 laimennosta eli McFarland 0,5. Tämä suspensio vastaa noin 10^8 bakteeria/ml (Nissinen 2009: 8). Myös EUCASTin (European Committee

on Antimicrobial Susceptibility Testing) mukaan viljelyn peruslähtökohtana voidaan käyttää 0,5 McFarlandin standardin mukaista mikrobisuspensiota, joka vastaa $1-2 \times 10^8$ CFU/ml vahvuutta (EUCAST 2013).

5.3 Tutkimus

Tutkimukseen kutsuttiin mukaan laboratoriohoitajia viljelemään maljoja manuaalisesti. He viljelivät lisäksi muutamia näytteitä silloin kun omilta töiltään ehtivät. Näin pystyttiin selvittämään onko eritasoisten tai ainakin erilaisten viljelijöiden käden jäljellä vaikutusta tulostasoon. Suuren näytemäärän takia mukaan kutsutut laboratoriohoitajat eivät ehtineet viljellä kaikkia näytteitä, joten kaikkia näytteitä ei viljelty usean eri manuaaliviljelijän toimesta. Tutkimukseen osallistuneet laboratoriohoitajat tiesivät, että kyseessä oli viljelyn toistettavuuteen liittyvä opinnäytetyö ja että tarkoituksena oli selvittää myös tulostason vaihtelua laboratorion omassa toimintaympäristössä. Laboratoriohoitajille ei annettu erillistä ohjeistusta virtsaviljelyyn, koska voitiin olettaa että laboratoriohoitajat osaavat viljellä virtsanäytteen oikeaoppisesti elatusainemaljalle. HUSLABilla on olemassa oleva ohje virtsaviljelyn suorittamiseen. Tutkimuksessa mukana olleet laboratoriohoitajat olivat saaneet kukin perehdytyksen bakteriologisiin viljelyihin.

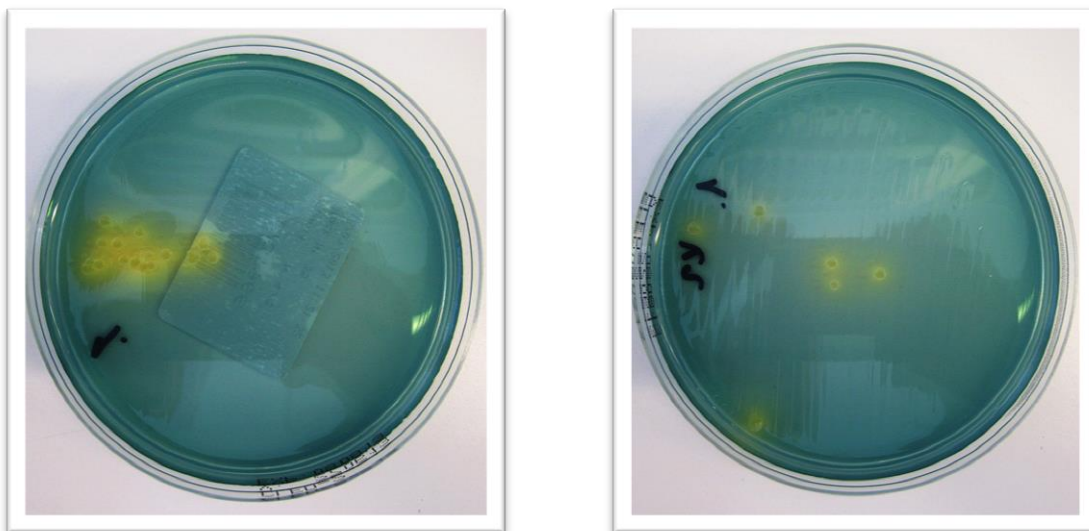
Näytteitä varten viljelyautomaatille tehtiin erilliset protokollat, koska normaalisti potilasnäyte viljellään vain kerran ja tutkimuksessa viljeltiin kustakin näytteestä rinnakkaisia maljoja. Viljelyautomaatin protokollaan lisättiin, että ennen näytteen viljelyä automaatti sekoitti näyteputkea 5 sekunnin ajan, normaalin 3 sekunnin sijaan. Sekoitusaikaa pidennettiin, koska yhdestä näytteestä viljeltiin yhdellä näytteen sekoituksella viisi maljaa. Näyte viljeltiin 1 µl:n silmukalla niin, että automaatti steriloi silmukan jokaisen näytemaljan välissä.

McFarland 0,5 suspensio valmistettiin siirtämällä kontrollikannoista bakteereja fysiologiseen (0,9 %) NaCl-liuokseen ja mittaamalla liuoksen sameus densitometrillä. Esitutkimuksen perusteella päätettiin hyväksyä lähtökohdaksi McFarland arvot 0,49–0,51. Seuraavat laimennokset tehtiin 1:10, niin että edellisestä laimennoksesta siirrettiin 100 µl suspensiota 900 µl:n 0,9 % NaCl:aa, joka oli pipetoitu koeputkiin. Ennen siirrostusta seuraavaan laimennokseen koeputkia sekoitettiin vortex-sekoittajalla, jotta suspensio olisi homogeenista ja laimennossuhde pysyisi oikeana. Viimeinen laimennos tehtiin 4 ml:n säilöntäaineelliseen virtsanäyteputkeen, jotta samasta putkesta voitaisiin tehdä viljelyt sekä viljelyautomaatilla että käsin. Viljelyautomaatin käytössä olevat näytteen-

syöttöyksiköt on tarkoitettu 4 ml:n ja 10 ml:n virtsanäyteputkille. Virtsanäyteputkeen pipetoitiin steriilisti 3600 µl 0,9 % NaCl:a. Edellisestä laimennoksesta pipetoitiin 400 µl suspensiota putkeen. Näyteputkesta siirrostettiin 1 µl suspensiota elatusainemaljalle.

Viljelyt suoritettiin viitenä rinnakkaismittauksena kaikista näytteistä manuaalisesti ja WASP®-viljelyautomaatilla. Kaikki näytteet viljeltiin käyttäen virtsanäytteille tarkoitettua hajotuskuviota. Laboratoriohoitajat eivät joudu työssään viljelemään rinnakkaismaljoja näytteistä. Itse vaihdoin manuaalisesti viljellessä silmukan jokaisen rinnakkaismaljan välissä, koska viljelyautomaatti steriloi silmukan jokaisen viljelemänsä maljan jälkeen ja näin ollen silmukka oli steriili ennen jokaista maljaa. Osa mukana olleista laboratoriohoitajista viljeli rinnakkaisnäytteet samalla silmukalla.

Kuviossa 3 näkyy viljelyautomaatilla sekä manuaalisesti viljellyn näytteen Cled-elatusainemaljat yön yli kasvatuksen jälkeen. Viljelyautomaatin viljelemässä maljassa on 16 bakteeripesäkettä, manuaalisesti viljeltyssä maljassa 6 bakteeripesäkettä.



Kuvio 3. Viljelyautomaatin viljelemä malja vasemmalla ja samasta näytteestä manuaalisesti viljelty malja oikealla.

Näytteitä kasvatettiin aerobisesti + 37 °C:ssa yön yli. Tavoitteena oli pitää maljoja lämpökaapissa 18–19 h, mutta käytännössä maljojen kasvatusajat olivat 18–24 tuntia. Yön yli kasvatuksen jälkeen bakteerit laskettiin jokaiselta maljalta. Tulokset merkittiin vihkoon käsin, josta ne siirrettiin Excel-taulukkoon.

Elatusainemaljoilta laskettiin bakteeripesäkkeiden määrä ja tarkasteltiin kasvuston puhautta. Näytteistä, joista oli tehty tunnistustestit, katsottiin vastaukset laboratorion tietojärjestelmästä. Näin saatiin tietää kasvoiko maljalla kokki- vai sauvabakteereita. Tunnistettu bakteerilaji merkittiin muistiin.

6 Tulokset

Tutkimusaineisto käsiteltiin käyttämällä Microsoft Excel 2010 taulukkolaskentaohjelmistoa sekä SPSS (IBM SPSS Statistics 18) tilastotieto-ohjelmistoa. Näytteistä piirrettiin viivakaaviot kustakin (ks. liite 1) sekä laskettiin keskiarvot, keskihajonnat (Standard deviation, s) ja variaatiokertoimet eli suhteelliset hajonnat (Coefficient of Variation, CV). Virtsanäytteet ja bakteerilajeista valmistetut näytteet käsiteltiin omissa taulukoissaan.

Näytteistä laskettiin minimi- ja maksimiarvot, joilla ilmaistaan näytteiden vaihteluväliä. Laatikko-jana kuvioita varten laskettiin näytteiden kvartiilit ja mediaanit. SPSS-ohjelmalla laskettiin lisäksi kahden riippuvan otoksen vertailutestit eli parittaisten otosten t-testit (ks. liite 3) viljelyautomaatilla ja manuaalisesti viljeltyjen näytteiden keskiarvoista. Parittaisesta t-testistä saatiin tulokseksi keskeiset testin tunnusluvut, joita olivat t eli testimuuttujan arvo, df eli vapausasteiden lukumäärä sekä Sig. (2-tailed) eli p-arvo. Tässä tutkimuksessa oltiin kiinnostuneita nimenomaan p-arvosta.

T-testin tuloksena saatava p-arvo kertoo todennäköisyyden sille, selittyykö erojen keskiarvon poikkeama nolasta pelkästään otantavirheellä. Mitä pienempi p-arvo, sitä varmemmin erojen keskiarvo poikkeaa merkitsevästi nolasta ja sitä varmemmin havaittu ero on todellinen. (Taanila 2012; Taanila 2013.)

Yleensä p-arvon tulkinnessa käytetään seuraavia raja-arvoja:

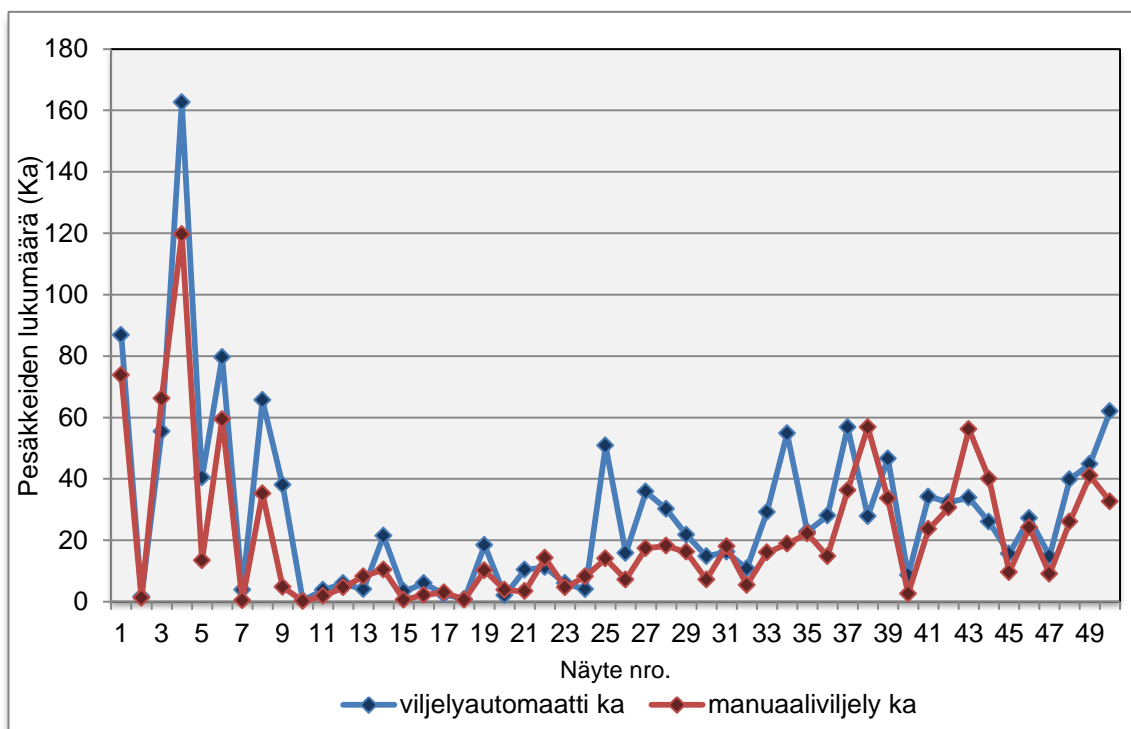
- Eroa sanotaan tilastollisesti melkein merkitseväksi, jos p-arvo on alle 0,05
- Eroa sanotaan tilastollisesti merkitseväksi, jos p-arvo on alle 0,01
- Eroa sanotaan tilastollisesti erittäin merkitseväksi, jos p-arvo on alle 0,001 (Holopainen - Pulkkinen 2008: 177.)

T-testillä laskettiin lisäksi otoskoko, korrelaatiokerroin ja korrelaatiokertoimen p-arvo. Korrelaatiokertoimella mitataan tilastollista, eli mitattavien arvojen yhteyden voimakkuutta. Korrelaatiokerroin antaa arvoja välillä -1-+1. (Holopainen – Pulkkinen 2008: 233–234.) Yleensä yhteys tulkitaan vahvaksi jos arvo on yli 0,8 (Leskinen 2013a: 10).

6.1 Virtsanäytteet

Tutkituista 50 virtsanäytteestä 41:llä oli pienempi variaatiokerroin (CV %) viljelyautomaatilla viljellyillä näytteillä kuin manuaalisesti samasta näytteestä viljellyillä näytteillä. Näin ollen näytteistä 82 %:lla oli pienempi variaatiokerroin viljelyautomaatilla viljellen. Vain 2 näytteellä 50:stä (4 %) variaatiokerroin oli suurempi viljelyautomaatilla kuin manuaalisesti viljellen. Kuuden näytteen osalta (12 %) yhden manuaaliviljelijän suhteellinen variaatiokerroin oli pienempi kuin viljelyautomaatilla. Virtsanäytteiden bakteeriviljelylle ei ole asetettu tavoitearvoja suhteellisen hajonnan suhteen, joten tässä tutkimuksessa kaikki viljelyautomaatilla viljeltyjen näytteiden pienemmät variaatiokertoimet verrattuna manuaalisesti viljeltyihin näytteisiin otettiin huomioon. Virtsanäytteistä lasketut keskiarvot, keskihajonnat ja variaatiokertoimet näkyvät liitteessä 3.

Kuviossa 4 kuvataan virtsanäytteiden keskiarvoja viljelyautomaatilla ja manuaalisesti viljeltyinä. Tutkituista 50 näytteestä 40:llä eli 80 %:lla oli suurempi pesäkkeiden lukumäärän keskiarvo viljelyautomaatilla viljellyillä näytteillä. Kaavioon on otettu mukaan manuaalisesti viljelty näytteet yhden viljelijän osalta.



Kuvio 4. Virtsanäytteiden keskiarvot viivakaaviolla esitettynä.

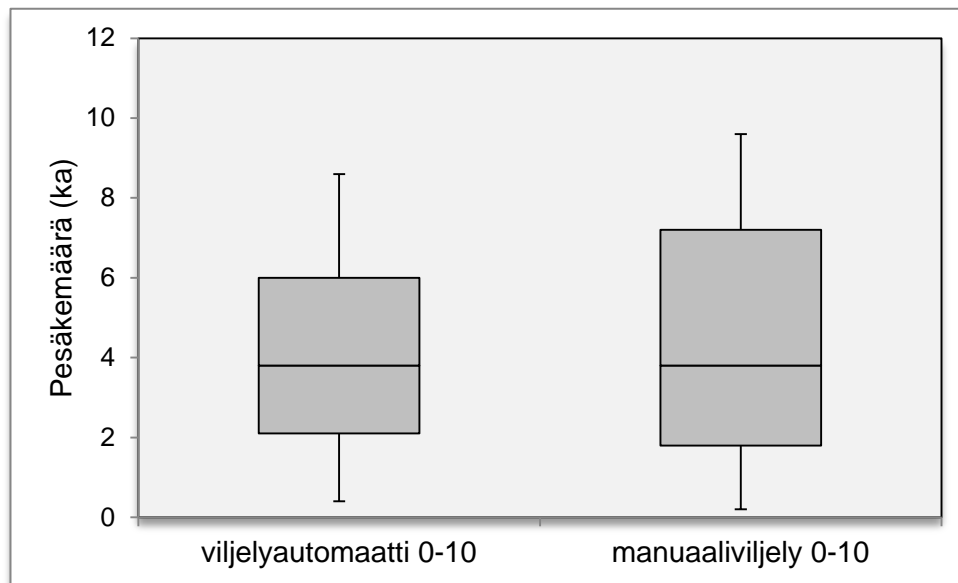
Virtsanäytteiden viljelytulokset ryhmiteltiin pesäkemäärien mukaan kolmeen ryhmään ja niistä piirrettiin laatikko-jana-kuviot (ks. kuvio 5, kuvio 6 ja kuvio 7). Ryhmät ryhmiteltiin niin, että ensimmäiseen ryhmään poimittiin näytteet joiden pesäkemäärien keskiarvo oli 0-10, toiseen ryhmään ne, joissa keskiarvo oli 11–30 pesäkettä ja kolmanteen ne, joissa pesäkemäärien keskiarvot olivat yli 30.

Laatikko-jana kuviolla tarkasteltiin tulosten jakauman sijaintia ja hajontaa. Se sopi käytettäväksi, koska muuttujat saivat paljon eri arvoja. (KvantiMOTV 2004.) Lasketuista laatikko-jana kuvioista ei voi päätellä viljelyautomaatin ja manuaalisten viljelyiden välistä riippuvuutta, vaan niiden jakaumia.

Laatikko-jana kuviossa tarkasteltava ryhmä jaetaan neljään yhtä suureen joukkoon tunnuslukujen avulla. Tunnusluvut ovat minimi, alakvartiili, mediaani, yläkvartiili ja maksimi. (KvantiMOTV 2004.) Kuvioissa janojen väli on havaintojen vaihteluväli eli se kuvaa aineiston kokonaispeittoa (Leskinen 2013a: 6). Laatikoiden sisällä on viiva, joka kuvaa mediaania. Mediaani on keskimäinen havainto järjestetystä aineistosta, jos havaintoja on pariton määrä. Parillisesta määrästä havaintoja, esitetään mediaanina jompikumpi keskimmaisistä arvoista. Mediaani jakaa havainnot kahteen osaan niin että puolet arvoista on mediaania pienempiä, puolet suurempia. (Holopainen - Pulkkinen 2002: 80.) Laatiko-jana kuvioissa laatikot kuvaavat otoksen kvartiileja. Alakvartiili on laatikon alareuna ja yläkvartiili yläreuna.

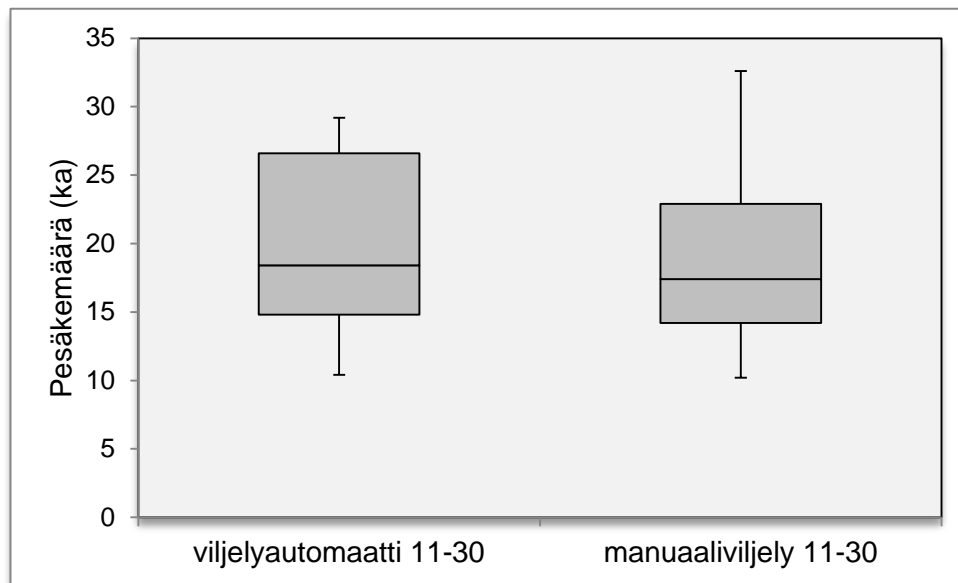
Kvartiiliväli kuvaa aineiston keskimmäisen 50 %:n sijoittumista (Holopainen - Pulkkinen 2002: 89). Jos siis mediaanin suuruisia, tai pienempiä arvoja on aineistosta puolet, korkeintaan alakvartiilin suuruisia havaintoja on 25 % ja vähintään yläkvartiilin suuruisia arvoja 25 %.

Kuviosta 5 näkee, että viljelyautomaatilla viljeltyjen näytteiden tulokset ovat hajonnaltaan pienempiä kuin manuaalisten viljelyiden, kun verrataan sellaisia näytteitä, joissa pesäkkeiden keskiarvot ovat 0-10.

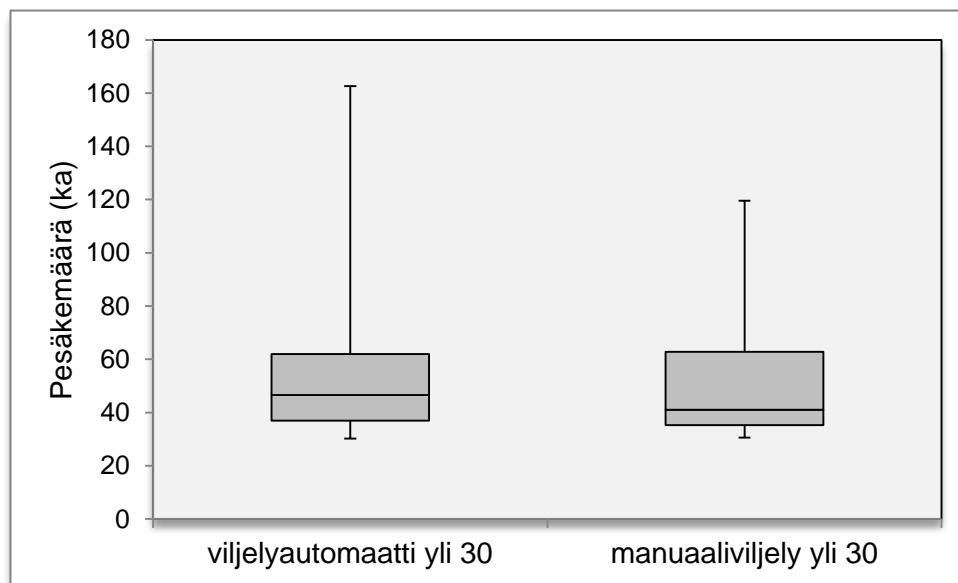


Kuvio 5. Viljelyautomaatilla ja manuaalisesti viljeltyjen näytteiden pesäkemäärien keskiarvojen jakaumat laatikko-jana kuviolla esitettynä ryhmässä, jossa pesäkkeitä 0-10. Viljelyautomaatti n=14, manuaaliviljely n=20.

Kuviossa 6 on esitetty jakaumat näytteistä, joiden pesäkemäärien keskiarvot olivat 11–30. Viljelyautomaatin jakauma on leveämpi kuin manuaalisesti viljeltyjen näytteiden. Kuviossa 7 näkyy näytteet joiden pesäkemäärien keskiarvot olivat yli 30. Viljelyautomaatin jakauma on kapeampi kuin manuaalisesti viljellyissä näytteissä.



Kuvio 6. Viljelyautomaatilla ja manuaalisesti viljeltyjen näytteiden pesäkemäärien keskiarvojen jakaumat laatikko-jana kuviolla esitettynä ryhmässä, jossa pesäkkeitä 11–30. Viljelyautomaatti n=17, manuaaliviljely n=17.



Kuvio 7. Viljelyautomaatilla ja manuaalisesti viljeltyjen näytteiden pesäkemäärien keskiarvojen jakaumat laatikko-jana kuviolla esitettynä ryhmässä, jossa pesäkkeitä yli 30. Viljelyautomaatti n=19, manuaaliviljely n=13.

Taulukkoon 1 on koottu pesäkemäärien keskiarvojen mukaan ryhmiteltyjen näytteiden keskiarvojen minimi- ja maksimiarvot sekä suurimmat ja pienimmät variaatiokertoimet ryhmän näytteiden sisällä. Variaatiokertoimet ovat joka ryhmän sisällä pienemmät viljelyautomaatilla viljeltyjen näytteiden kohdalla, paitsi suurin variaatiokerroin ryhmässä 0-10 bakteeripesäkettä, jossa se on sama viljelyautomaatilla ja manuaalisesti viljellyissä näytteissä.

Taulukko 1. Ryhmiteltyjen näytteiden pesäkemäärien keskiarvojen minimi- ja maksimiarvot sekä variaatiokertoimet.

ryhmä, pesäkkeiden keskiarvot	pesäkkeiden ka. minimi	pesäkkeiden ka. maksimi	min CV % ryhmän sisällä	maks CV % ryhmän sisällä
automaatti 0-10	0,4	8,6	26,31	223,6
manuaali 0-10	0,2	9,6	57,05	223,6
automaatti 11-30	10,4	29,2	6,58	35,67
manuaali 11-30	10,2	32,6	9,83	63,34
automaatti yli 30	30,2	162,6	2,35	25,91
manuaali yli 30	30,6	119,6	7,07	53,97

Taulukossa 2 on esitelty näyteparien p-arvot ja korrelaatio. Taulukossa korrelaation p-arvo kuvaa korrelaation erehtymisriskiä sille, että hylätään nollahypoteesi jonka mukaan muuttujat ovat toisistaan lineaarisesti riippumattomia. (Holopainen - Pulkkinen 2008: 242-243.) Korrelaatio oli odotettavasti suuri, koska muuttujien arvot vastaavat pareittain toisiaan (Taanila 2013). Otokoko vaihtelee manuaalisesti viljeltyjen näytteiden osalta, koska kaikkia näytteitä ei viljelty useamman laboratoriohoitajan toimesta manuaalisesti.

Verratessa virtsanäytepareja toisiinsa kahden riippuvan otoksen vertailutestillä eli parittaisella t-testillä, saatiin tilastollisesti erittäin merkittävä ero viljelyautomaatin ja manuaalisen viljelyn välille. Verratessa kaikkia viljelyautomaatilla ja manuaalisesti yhden viljelijän toimesta viljeltyjä näytteitä sekä näytteiden keskiarvoja toisiinsa, saatiin molempien p-arvoksi 0,000, eli ero oli tilastollisesti erittäin merkitsevä. T-testillä verrattiin myös manuaalisesti viljeltyjen näytteiden tuloksia keskenään, Kahden manuaalisesti näytteitä viljelleen viljelijän (manuaali 1 ja manuaali 2) tulosten vertailun p-arvoksi saatiin 0,004, joten eroa voidaan sanoa tilastollisesti merkitseväksi. Toisen vertailuparin (manuaali 1 ja manuaali 3) viljelemien näytteiden tulosten välinen ero osoittautui tilastollisesti melkein merkitseväksi, koska p-arvoksi saatiin 0,011. Sen sijaan viimeisen vertailuparin (manuaali 2 ja manuaali 3) viljelemät näytteet eivät eronneet toisistaan

tilastollisesti, koska p-arvoksi saatiin 0,5 joka on yli arvon 0,05 jolloin eroa ei enää ole. Vertailutestillä verrattiin vielä keskenään näytteitä, joissa kasvoi kokkibakteereja sekä näytteitä, joissa kasvoi sauvabakteereja. Näytteiden tulokset oli saatu laboratorion tietojärjestelmästä. Tarkemmat tiedot vastauksista eli bakteerin nimi ja määrä löytyvät raakadatasta (ks. liite 7). Molempien verrattujen ryhmien kesken p-arvo oli 0,000, eli ero viljelyautomaatilla ja manuaalisesti viljeltyjen kokki- ja sauvabakteerinäytteiden kohdalla oli tilastollisesti erittäin merkitsevä.

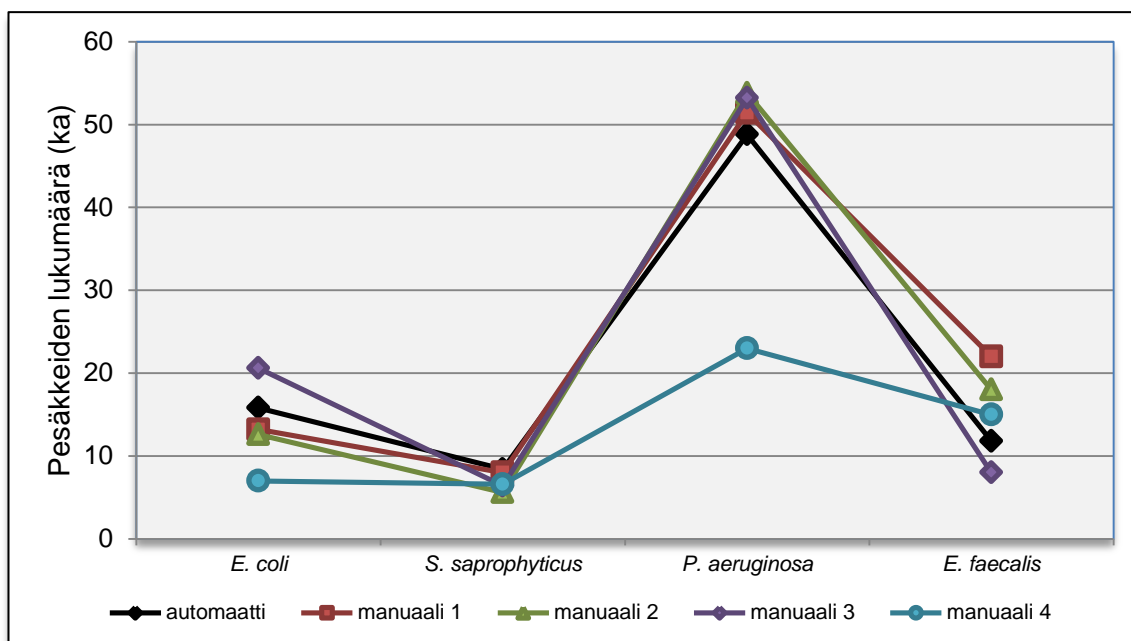
Taulukko 2. Virtsanäytteiden t-testin tulokset.

näytepari	otoskoko	korrelaatio	p-arvo (korrelaatio)	p-arvo
automaatti vs. manuaali	250	0,839	0,000	0,000
automaatti ka vs. manuaali ka	50	0,876	0,000	0,000
manuaali 1 vs. manuaali 2	130	0,852	0,000	0,004
manuaali 2 vs. manuaali 3	60	0,818	0,000	0,500
manuaali 1 vs. manuaali 3	60	0,903	0,000	0,011
autom. kokki vs. manuaali kokki	85	0,848	0,000	0,000
autom. sauva vs. manuaali sauva	35	0,759	0,000	0,000

6.2 Bakterikantanäytteet

Bakteerilajeista valmistetuille näytteille laskettiin samat parametrit kuin virtsanäytteille. Näytteiden keskiarvot, keskihajonnat, suhteelliset hajonnat sekä minimi- ja maksimiarvot on esitetty liitteessä 4. Bakteerilajeista valmistetut näytteet viljeltiin viljelyautomaatilla sekä manuaalisesti neljän viljelijän toimesta.

Kuviossa 8 kuvataan bakteerilajeista valmistettujen näytteiden viljelytulosten hajontaa viljelyautomaatilla viljeltyjen ja manuaalisesti viljeltyjen näytteiden kesken. Mukaan viivakaavioon sijoitettiin neljän eri viljelijän tulokset viljelyautomaatin tulosten lisäksi.



Kuvio 8. Bakteerilajeista valmistettujen näytteiden pesäkemäärien keskiarvot viivakaaviolla esitettyinä.

Bakteerilajeista valmistetuista näytteistä ainoastaan *Escherichia coli* antoi viljelyautomaatilla pienemmän variaatiokertoimen kuin manuaalisesti viljeltyt näytteet. *Pseudomonas aeruginosa* antoi pienemmän variaatiokertoimen kahden manuaalisesti viljellyn näytteen osalta verrattuna viljelyautomaatilla viljeltyihin näytteisiin. *Staphylococcus saprophyticus* oli vain yhdellä manuaalisesti viljellyllä rinnakkaisnäytesarjalla variaatiokertoimeltaan suurempi kuin viljelyautomaatilla viljeltyt näytteet. *Enterococcus faecalis* kohdalla vain yhdellä manuaalisesti viljellyllä sarjalla oli pienempi variaatiokerroin kuin viljelyautomaatilla. Bakteerilajeista valmistetuissa näytteissä pesäkkeiden lukumäärän keskiarvo oli suurempi viljelyautomaatilla viljeltyistä näytteistä ainoastaan *Staphylococcus saprophyticus* kohdalla. *Escherichia coli* antoi viljelyautomaatilla viljeltyjä näytteitä suuremman pesäkemäärän keskiarvon vain yhden manuaalisesti viljelleen henkilön osalta. *Pseudomonas aeruginosa* ja *Enterococcus faecalis* kohdalla tulokset olivat suhteellisen yhteneväisiä viljelyautomaatin ja manuaalisesti viljeltyjen näytteiden kesken. Molemmissa tulostaso hieman poikkesi ainoastaan yhden manuaalisesti näytteitä viljelleen henkilön osalta, joissa tulostaso oli matalampi.

Parittaisella t-testillä verrattiin Bakteerilajeista valmistettujen näytteiden tuloksia viljelyautomaatin tuloksiin (ks. taulukko 3). Näytepareista viljelyautomaatilla viljeltyt ja kolmet eri manuaalisesti viljeltyt näytteet eivät eronneet tilastollisesti merkitsevästi toisistaan.

Ainoa näytepari, jossa tilastollinen ero havaittiin, oli viljelyautomaatilla viljeltyjen ja manuaaliviljely 4:n välillä (p-arvo 0,011). Koska p-arvo oli yli 0,01 ja alle 0,05 eroa voidaan pitää tilastollisesti melkein merkitseväenä.

Taulukko 3. Bakterikantanäytteiden t-testin tulokset.

näytepari	otoskoko	korrelaatio	p-arvo (korrelaatio)	p-arvo
automaatti vs. manuaali 1	20	0,879	0,000	0,222
automaatti vs. manuaali 2	20	0,893	0,000	0,522
automaatti vs. manuaali 3	20	0,914	0,000	0,668
automaatti vs. manuaali 4	20	0,675	0,001	0,011

7 Tulosten tarkastelu ja johtopäätökset

Suurimmalla osalla viljelyautomaatilla viljeltyillä virtsanäytteillä variaatiokerroin oli pienempi kuin manuaalisesti viljeltyillä näytteillä (liite 3).

Bakteerikannoista valmistettujen näytteiden kohdalla (liite 4) ainoastaan yks näytteistä, *Escherichia coli* antoi toistettavampia tuloksia viljelyautomaatilla kuin manuaalisesti viljeltäessä. Vastaavasti vain yksi näyte, *Staphylococcus saprophyticus* antoi manuaalisesti suoritetuille viljelyille alhaisemman pesäkemäärien keskiarvon kuin viljelyautomaatti.

Liitteestä 3 nähdään, että virtsanäytteistä 80 %:lla oli suurempi pesäkkeiden lukumäärän keskiarvo viljelyautomaatilla ja ainoastaan 7 näytteellä (14 %) pesäkkeiden lukumäärän keskiarvo oli suurempi manuaalisesti viljeltynä. Lisäksi 3 näytteessä (6 %) keskiarvo oli suurempi yhden manuaalisesti näytteitä viljelleen henkilön toimesta.

Osassa näytteissä manuaalisesti viljeltynä pesäkkeiden keskiarvon määrä jäi alle kolmen ja samasta näytteessä viljelyautomaatilla viljeltynä pesäkemäärän keskiarvoksi tuli yli 3. Käsitlemättömistä tuloksista (liite 7) näkee, että useiden näytteiden kohdalla viljelyautomaatilla viljeltyillä maljoilla kasvoi yli 3 pesäkettä, mutta vastaavissa manuaalisesti viljeltyissä näytteissä alle 3 pesäkettä. Näytteen keskiarvoiksi saattoi silti tulla yli 3 pesäkettä. Tällainen rinnakkaismaljojen tulostason ero voi olla ongelmallinen, koska HUSLABin ohjeistuksen mukaan bakteerimaljan bakteerilaji tunnistetaan ja sille tehdään herkkyysmääritys vain, jos siinä kasvaa 3 bakteeripesäkettä tai yli. Osassa tutki-

muksen näytteistä potilasta hoitava yksikkö ei olisi siis saanut bakteerin nimeä eikä herkkyytuloksia jos näyte olisi viljelty vain käsin.

Näytteet luokiteltiin ryhmiin pesäkemäärien perusteella, koska haluttiin tarkastella tuloksia hieman tarkemmin ryhmien kesken. Kuvioista 5, 6 ja 7 nähdään näytteiden pesäkemäärien hajonta, kun verrattiin keskiarvoja. Yleensä virtsatietulehduksen rajana pidetään 10:tä puhtaana kasvavaa bakteeripesäkettä maljalla. Tätä pienempi bakteerikasvu on usein kliinisesti merkityksetöntä. Näytteiden tuloksia, jotka ryhmiteltiin ensimmäiseen ryhmään (0-10 pesäkettä), voidaan siis pitää vähemmän merkittävänä. Kuvioista 6 näkyy, että yli 10 bakteeripesäkkeen sarjassa viljelyautomaatin tuloksissa on suurempi jakauma kun verrataan keskiarvoja, mutta vaihteluväli on pienempi. Taulukkoon 1 on koottu ryhmiteltyjen näytteiden keskiarvojen minimi- ja maksimiarvot, sekä suurimmat ja pienimmät variaatiokertoimet ryhmän näytteiden sisällä. Variaatiokertoimet ovat jokaisen näyteryhmän sisällä pienempiä viljelyautomaatilla.

Liitteessä 5 on esitettynä virtsanäytteiden alkuperäiset pesäkemäärät sekä seuraavana päivänä viljeltyjen näytteiden minimi- ja maksimiarvot. Näytteet säilyivät varsin muuttumattomina pesäkemäärien suhteen jääkaappilämpötilassa. Tämä johtuu luultavasti siitä, että useimpien bakteerien lisääntyminen hidastuu jääkaappilämpötilassa. Näytteitä säilytettiin jääkaapissa odottamassa seuraavan päivän viljelyä, koska haluttiin että näytteiden bakteerimäärät pysyivät samalla tasolla alkuperäiseen viljelytulokseen nähden. Minimiarvot ja maksimiarvot kuvaavat seuraavana päivänä samoista näytteistä tutkimukseen viljeltyjen pesäkemäärien vaihteluväliä.

Parittaista t-testiä ei voitu käyttää näyteparien vertailuun, koska otoskoko oli liian pieni. Jos havaintojen lukumäärä on alle 15, testiä ei tule käyttää tulosten vääristymän takia (Leskinen 2013b: 4). Jos otoksen koko on yli 40, t-testiä on melko turvallista käyttää vaikka erotuksien jakaumat olisivat vinot (Leskinen 2013b: 4). Otoskoko oli vertailutesteissä virtsanäytteiden osalta kaikissa muissa, paitsi sauvabakteereita verratessa ($n=35$), yli 40. Bakteerikantanäytteiden kohdalla otoskoko oli 20, joten sitä ei voi pitää yhtä riittävänä kuin virtsanäytteiden otosta. Koska otosten lukumäärä oli kuitenkin yli 15, päätettiin vertailutestiä käyttää bakteerikantanäytteidenkin kohdalla. Jokaisesta näytteestä piirrettiin myös viivakaaviot (liite 1) tulostasojen tarkastelua varten.

Viljelyautomaatin viljelemien ja manuaalisesti viljeltyjen näytteiden tuloksissa todettiin tilastollisesti merkitsevä ero (taulukko 2). Manuaalisesti viljeltyistä näytteistä kahden eri

viljelijän näytteiden tulokset eivät eronneet tilastollisesti toisistaan, mutta yhden viljelijän viljelemien näytteiden tulokset erosivat molemmista muista manuaalisista viljelytuloksista. Manuaalisesti näytteitä viljelleille ei annettu tarkkaa ohjeistusta viljelyihin, koska oletuksena oli että he osaavat viljellä virtsanäytteen ohjeistuksen mukaan. Eri viljelijöillä on kuitenkin erilaisia tyylejä viljellä näyte maljalle. Tämä riippuu tottumuksista ja ehkä siitä, koska heidät on perehdytetty virtsaviljelyyn. Ohjeet ovat vuosien kuluessa hieman muuttuneet.

Verrattaessa sauva- ja kokkibakteereita toisiinsa (taulukko 2), otoskoko jäi hieman pieneksi sauvabakteerinäytteiden kohdalla ($n=35$). Tämä oli yllättävää, koska yleisimmin virtsatieinfektiot ovat juuri sauvabakteerin (*E. coli*) aiheuttamia. Tutkimukseen valikoitui paljon näytteitä, joissa oli helposti havaittava ja laskettava bakteerilaji valtakasvuna, mutta pohjalla saattoi kasvaa muutama pesäke toista lajia erittäin pieninä pesäkkeinä. Joskus toista bakteerilajia kasvoi valtakasvun lisäksi vain yksi pesäke maljalla. Tutkimuksen kannalta hankaluus tällaisten näytteiden käytössä oli siinä, että bakteerille ei saatu nimeä. Täysin puhtaiden kasvustojen, joissa olisi kasvanut ihanteellinen määrä pesäkkeitä, valinta tutkimukseen olisi kuitenkin supistanut näytemateriaalia. Tällaisten näytteiden valinta tarpeeksi suurella otoskoolla olisi ollut mahdollista vain pidemmän ajan puitteissa, koska näytteitä viljeltiin vain muutaman näytteen sarjoissa kerrallaan.

Bakteerilajeista valmistettujen näytteiden osalta (liite 4) erot viljelyautomaatin ja manuaalisten viljelyiden välillä eivät ilmenneet yhtä selvästi kuin virtsanäytteiden kohdalla (liite 3). Otosten lukumäärissä oli suuri ero. Virtsanäytteitä oli keskiarvon ja keskiarvon suhteellisen hajonnan vertailussa 50 kappaletta, bakteerikantanäytteitä oli vain 4 kappaletta. Tosin virtsanäytteiden kohdalla keskiarvoa ja keskiarvojen suhteellista hajontaa verrattiin vain viljelyautomaatin ja yhden manuaalisesti näytteitä viljelleen henkilön välillä. Bakteerikantanäytteiden kohdalla verrattiin viljelyautomaatin ja neljän eri viljelijän tuloksia keskenään. Vertailutesteissä (taulukot 2 ja 3) ja kaikkien näytteiden suhteellisia hajontoja vertaamalla (liitteet 3 ja 4) virtsanäytteitä oli 250 kappaletta kun jokainen viljelty näyte oli mukana. Vastaavissa vertailussa bakteerikannoista valmistettujen näytteiden osalta vertailussa oli vain 20 näytettä.

8 Pohdinta

Tutkimuksella haluttiin selvittää onko viljelyautomaatti toistettavampi kuin manuaaliviljely. Lisäksi haluttiin selvittää, onko viljelyautomaatin tulostasossa eroa verrattuna manuaalisiin viljelyihin. Näytteitä viljeltiin manuaalisesti eri ihmisten toimesta, koska haluttiin tietää onko eri viljelijöiden viljelemissä näytteissä tulostasoissa eroa eli eroavatko eri viljelijöiden tulokset toisistaan. Tutkimuksen tavoitteena oli saada tietoa virtsaviljelyn toistettavuudesta ja tulostasoista nimenomaan laboratorion omassa toimintaympäristössä. Työn päämäärä oli selvä koko prosessin ajan.

Näytteiden suhteellisia hajontoja vertaamalla, selvisi että viljelyautomaatti on toistettavampi kuin manuaalisesti suoritettu virtsaviljely. Virtsanäytteiden pesäkemäärien keskiarvoja seuraamalla selvisi että viljelyautomaatin viljelemien näytteiden tulostaso oli korkeampi kuin manuaalisesti suoritettujen viljelyiden.

Viljelyautomaatti kastaa viljelysilmukan noin puoleen väliin näyteputkea viljellessään näytettä. Laitteessa ei ole nestepinnan tunnistajaa, joten viljelysilmukka on ohjelmoitu valmistajan puolelta käymään näytteessä pintaa syvemmillä. Tällä vältetään vajaiden näyteputkien turha hylkääminen. Manuaalisesti virtsanäytteitä viljellessä, viljelysilmukka kuuluisi kastaa näytteeseen niin että silmukka peittyy näytteeseen, ei silmukan varsi. Tällä varmistetaan että silmukkaan todella saadaan tilavuudeltaan 1 µl näytettä. Viljelyautomaatin korkeampi tulostaso pesäkkeiden määrässä saattaa osittain selittyä viljelysilmukan kastamisella syvemmälle näytteeseen, jolloin näytteen tilavuus kasvaa.

Vertailutestillä selvisi että manuaalisesti viljeltyjen virtsanäytteiden tulokset erosivat tilastollisesti merkitsevästi viljelyautomaatin tuloksista ja että eri ihmisten manuaalisesti viljelemät näytteet erosivat toisistaan tilastollisesti merkitsevästi, paitsi yhden vertailuparin kohdalla.

Viljelyautomaatti viljelee jokaisen maljan samalla tavalla. Manuaalisessa viljelyssä vaihtelua aiheuttavat muun muassa viljelykuvio, nopeus jolla näyte levitetään maljalle ja viljelysilmukan kulma maljaan nähden. Jokaisella viljelijällä on yksilöllinen tapa suorittaa viljely, vaikka se olisi ohjeistettu kaikille samalla tavalla. Toistettavuus olisi voinut selvästi parantua manuaalisesti viljeltyjen näytteiden kohdalla jos viljelijöille olisi laadittu tarkat ohjeet etukäteen. Viljelyautomaatin tuloksia verrattiin kuitenkin pääasiassa

yhden manuaalisesti näytteitä viljelleen henkilön tuloksiin, koska kaikkia näytteitä ei viljelty kuin yhden viljelijän toimesta manuaalisesti.

8.1 Tutkimuksen luotettavuuden arviointi

Laboratoriotyöskentelyssä noudatettiin bakteriologian laboratorion työtapoja. Kattavan otoksen tarkoituksena oli pyrkiä siihen, että tulokset eivät olisi sattumanvaraisia. Tutkimuksen luotettavuuden kannalta oli tärkeää menetellä jokaisen näytteen kohdalla samalla tavalla. Tämä tarkoitti sitä, että jokainen viljelty näyte käsiteltiin aina samalla tavalla sekä viljelyautomaatilla että manuaalisesti. Jos aineisto olisi analysoitu yhdellä kertaa, olisi työtapojen vakiointi ollut helpompaa. Virtsanäytteiden kohdalla viljelyt suoritettiin monen viikon aikana, pienissä erissä. Tällöin oli erityisen tärkeää pyrkiä toimimaan aina samoin. Viljelyautomaatille laaditun ohjelman ansiosta ja oikeiden työtapojen omaksuminen esitutkimuksen myötä helpotti työskentelyä ja paransi mittaustapojen reliabiliteettia eli toistettavuutta. Bakterikantanäytteet viljeltiin yhdellä kertaa näytemäärän pienuuden takia.

Tutkimuksen suunnitelmavaiheessa mietinnässä oli testata esitutkimuksessa pienimuotoisesti ns. carry over-ilmiötä eli bakteerien siirtymää. Bakteerien siirtymä näytteestä toiseen olisi vakava virhelähde kvantitatiivisessa tutkimuksessa. Testauksesta kuitenkin luovuttiin, koska aiheesta oli tehty aikaisempia tutkimuksia, eikä ollut syytä epäillä viljelyssä tapahtuvaa siirtymää näytteestä toiseen.

Bakteeripesäkkeiden laskemisessa viljellyiltä maljoilta mahdollisesti tapahtuneet virheet olisi voitu välttää sillä, että jokainen malja olisi laskettu kaksi kertaa. Bakteeripesäkkeiden laskeminen yritettiin tehdä mahdollisimman luotettavaksi sillä, että virtsanäytteitä analysoitiin muutaman sarjan jaksoissa. Näin laskemiseen jaksoi keskittyä paremmin. Pesäkkeiden laskeminen pienissä erissä oli järkevää myös siksi, että maljat seisoivat huoneenlämmössä pöydällä vähemmän aikaa kuin jos maljoja olisi ollut kerralla enemmän laskettavana. Bakteeripesäkkeitä tarkkailtiin rinnakkaisina viljellyiltä maljoilta, mahdollisen kontaminaation takia.

Tutkimuksen luotettavuuteen vaikutti oleellisesti myös näytemaljojen oikea merkitseminen sekä oikeat kasvatusolosuhteet. Koska rinnakkaisina viljeltyjä maljoja haluttiin verrata toisiinsa, täytyi maljojen viljelyjärjestys pitää koko prosessin ajan tarkasti merkittynä. Käytännössä elatusainemaljat numeroitiin juoksevasti aina ennen viljelyä ja asetet-

tiin oikeaan järjestykseen viljelyautomaatille ja vetokaappiin manuaalisia viljelyjä varten. Maljojen päälle merkittiin kellonaika kun ne laitettiin lämpökaappiin kasvamaan. Tällä seurattiin kasvatusaikaa, joka pidettiin muutaman tunnin erolla samana jokaisen näytteen kohdalla. Laboratorion kasvatuskäppin lämpötilaa seurattiin laboratorion henkilökunnan toimesta, koska samaa lämpökaappia käytettiin myös potilasnäytteiden kasvatukseen.

Tutkimuksen luotettavuuden arvioinnissa, on otettava huomioon myös tutkimuksen validius (Hirsjärvi ym. 2005: 216). Tutkimuksen validiteetti ilmaisee, miten on kyetty mittaamaan juuri sitä, mitä pitikin mitata (Holopainen - Pulkkinen 2002: 16). Tässä työssä vertailutestiä ei voitu käyttää näyteparien vertailuun liian pienen otoskoon takia, jolloin toistettavuuden vertaaminen onnistui ainoastaan näytteiden keskiarvoja vertaamalla. Tutkimuskysymyksiin saatiin kuitenkin vastaukset työn tulosten kautta. Tuloksia voi pitää luotettavina, koska otoskoko oli riittävä ja tulokset suurimmalta osin odotettuja. Tutkimuksen validiteettia lisää se, että ongelman ratkaisemiseksi käytettiin kahta erilaista tutkimusaineistoa. Vaikka tulokset eivät olleet yhtä selviä bakteerilajeista valmistetuissa näytteissä kuin virtsanäytteissä, olivat ne kuitenkin samansuuntaisia.

Tutkimustuloksia voidaan pitää pätevinä, koska tulokset vastasivat aikaisempien tutkimusten tuloksia. Tutkimuksen aineisto on esitetty kokonaisuudessaan liitetiedostona ja tulosten tulkinnoille on esitetty perustelut. Tutkimuksen toteutusvaihe kuvattiin totuudenmukaisesti ja tarkasti. Tulosten käsittelyssä välttyttiin väärän tilastollisen testin valinnasta mahdollisesti aiheutuva tulosten vääristymä, kun apuna käytettiin tilastotieteen opettajaa sekä tutkimuksen ohjaajia.

8.2 Tutkimuksen eettisyys

Tutkimuksessa noudatettiin hyvää tieteellistä käytäntöä ja pidettiin eettiset periaatteet mielessä.

Suomen Bioanalytikkoliitto ry on laatinut bioanalyttikon eettiset ohjeet, joiden mukaan bioanalyttikon toiminnassa ensisijaisena tavoitteena on potilaan oikeuksien ja hyvinvoinnin kunnioittaminen laboratoriotutkimusprosessin kaikissa vaiheissa. (Suomen Bioanalytikkoliitto ry 2006.) Potilasnäytteitä käsiteltäessä tietosuojaa koskevat kysymykset oli otettu huomioon ja salassapitovelvollisuutta noudatettiin koko tutkimusprosessin ajan. Näytteitä ei käsitelty henkilöiden nimillä tai henkilötunnuksilla, vaan ne numeroitiin juoksevasti. Tuloksia tarkasteltiin näytteistä niille annettujen työjononumeroiden avulla,

jolloin potilasnäytteiden henkilötiedot eivät missään vaiheessa päätyneet tutkimuksen aikana kerättyyn materiaaliin. Näytteistä kerättiin vain välttämätön tieto. Työjononumeron perusteella näytetietoja voi hakea laboratorion tietojärjestelmästä henkilö, jolla on tunnukset järjestelmään. Näytteiden hävittämisessä noudatettiin laboratorion tapaa hävittää biologinen, tietosuojattu jäte.

8.3 Lopuksi

Viljelyautomaatti on helpottanut nestemäisten näytteiden viljelyä bakteriologian osastolla. Tutkimus tukee osaltaan sen käyttöä ja kehitystä edelleen. Mitä enemmän näytteitä voidaan tulevaisuudessa käsitellä nestemäisessä muodossa, sitä enemmän viljelyautomaatista on hyötyä bakteriologian laboratoriossa.

Laitteen viljelemissä näytteissä oli hieman korkeampi tulostaso verrattuna manuaalisesti viljeltyihin näytteisiin. Näytteiden kohdalla, joissa todettiin juuri tulosten tulkinnan kannalta merkittävä määrä bakteeripesäkkeitä viljelyautomaatilla viljeltyinä, saattoivat manuaalisesti viljeltyinä jäädä alle merkitsevyystason. Toisaalta klinikon diagnoosi virtsatieinfektiosta ei perustu pelkästään virtsan bakteeriviljelyyn, vaan aina myös potilaan oireisiin.

Tulosten arvioinnin kannalta näyttemateriaalia olisi voinut valikoida vielä hieman tarkemmin. Koska tuloksia ryhmiteltiin pesäkemäärien mukaan, olisi aineiston keräysvaiheessa voinut katsoa, että jokaiseen ryhmään tulee suunnilleen saman verran näyttemateriaalia. Bakteerilajeista olisi voinut myös tehdä enemmän eri vahvuisia suspensioita tutkimukseen, jotta erilaisia pesäkemääriä olisi ollut helpompi saada kasaan. Bakteerilajeista olisi voitu valita *Escherichia coli*, ja viljellä siitä enemmän maljoja tutkimukseen, koska *E.coli* on yleisin virtsatieinfektion aiheuttava bakteeri. Virtsanäytteissä oli mukana *E.colia* kasvavia näytteitä, mutta niitä olisi voinut olla enemmän.

Tutkimusprosessi alkoi maaliskuun 2013 loppupuolella. Toteutusosan esitutkimus aloitettiin kesäkuun alussa samana vuonna. Virtsanäytteiden analysointi jatkui heinäkuun loppuun asti. Työn kokeellisen osan suorittaminen kesällä töiden lomassa oli antoisaa, koska minulla oli mahdollisuus keskustella monien henkilöiden kanssa opinnäytetyöhöni liittyvistä asioista. Työpaikalla oltiin ymmärtäväisiä ja jaksettiin neuvoa minua tarvittaessa. Näytteiden keräys onnistui hyvin, koska minulla oli aikaa kerätä ja viljellä niitä kesän ajan. Työn kokeelliseen osaan käytetyn pitkäköön ajan takia näytteiden määrä

paisui hieman suureksi. Suuri näytemäärä oli työn tulosten merkitsevyyden kannalta hyväksi, mutta tulosten käsittelyyn kului enemmän aikaa kuin olin suunnitellut. Koin tulosten tilastollisen käsittelyn ja tulosten tulkinnan tutkimuksen haastavimmaksi vaiheeksi. Suunnitelmavaiheessa olisi ollut hyvä laatia tarkempi suunnitelma aikatauluista, koska nyt työn kirjoittaminen ja tulosten laskeminen osui samalle ajankohdalle toisen projektin kanssa.

Aikaisemmat tutkimukset ovat osoittaneet viljelyautomaatin manuaalista viljelyä toistettavammaksi. Tämän opinnäytetyön ja aikaisempien tutkimusten perusteella, voin suositella viljelyautomaatin käytön jatkamista bakteriologisten näytteiden viljelyissä.

Lähteet

Bannister, Barbara A - Begg, Norman T - Gillespie, Stephen H. 2000. Infectious Disease. Second Edition. Blackwell Science. 216, 218, 220.

Baron, Ellen Jo - Peterson, Lance R. - Finegold, Sydney M. 1994. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 9th Edition. St. Louis, Missouri. Mosby-Year Book, Inc. 255.

BD 2006. BBL™ CLED Agar. Quality Control Procedures. Verkkodokumentti. <<http://www.bd.com/ds/technicalCenter/inserts/L007367%2804%29%280506%29.pdf>>. Luettu 13.5.2013.

Bierma, M.E. – van Bree, J.M. – van de Ten, M.J.G.T. – Liebrechts, T.C.J.M. – Arents, N.L.A. 2011. Is liquid microbiology by the WASP® reliable? Laboratory for Pathology and Medical Microbiology (PAMM), The Netherlands. 21th ECCMID May 2011, Milan, Italy. Luettavissa myös sähköisesti osoitteessa <<http://www.copaninnovation.com/studies/index.php?function=advsearch>>.

Bourbeau, Paul P - Swartz, Brandi Lynn 2009. First Evaluation of the WASP, a New Automated Microbiology Plating Instrument. Journal of Clinical Microbiology. 47(4): 1101. DOI: 10.1128/JCM.01963-08. Luettavissa myös sähköisesti osoitteessa <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2668317/>>.

Carlson, Petteri – Koskela, Markku 2011. Bakteriologiset tutkimukset. Teoksessa Hedman, Klaus - Heikkinen, Terho - Huovinen, Pentti - Järvinen, Asko - Meri, Seppo - Vaara, Martti (toim.) 2011. Infektiosairaudet. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 3. Helsinki. Kustannus Oy Duodecim. 37–41.

Copan diagnostic 2012. WASP®: Walk-Away Specimen Processor. Verkkodokumentti. <<http://www.copanitalia.com/index-1.htm>>. Luettu 16.10.2013.

EUCAST 2013. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. European society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. EUCAST Disk Diffusion Method. Version 3.0. Verkkodokumentti. <http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Disk_test_documents/Manual_v_3.0_EUCAST_Disk_Test.pdf>. Luettu 9.9.2013.

Fortelius, Carola 2001. Analyysimenetelmän validointi ja virhearvionti. EVTEK. Verkkodokumentti. <<http://users.evtek.fi/~carolaf/projseur/Validointi/tsld013.htm>>. Luettu 26.4.2013.

Fraser, Susan L 2012. Enterococcal Infections. Medscape. Verkkodokumentti. <<http://emedicine.medscape.com/article/216993-overview>>. Luettu 2.9.2013.

Glasson, J.H - Guthrie, L.H - Nielsen, D.J - Bethell, F.A 2008. US National Library of Medicine National Institutes of Health. J Clin Microbiol. 2008 April; 46(4): 1281–1284. Evaluation of an Automated Instrument for Inoculating and Spreading Samples onto Agar Plates. Journal of Clinical Microbiology. 2008 April; 46(4): 1281–1284. Luettavissa myös sähköisesti osoitteessa <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2292914/>>.

Greub, Gilbert - Prod'hom, G 2011. Automation in clinical bacteriology; what system to choose? Laboratory of Clinical Bacteriology, Institute of Microbiology, University of Lausanne and University Hospital Centre. Lausanne, Sveitsi. Clinical Microbiology and Infection 2011 March; 17(5): 655–660. Luettavissa myös sähköisesti osoitteessa <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1469-0691.2011.03513.x/pdf>>.

Hilla, Risto. Kliininen asiantuntija. HUSLAB, bakteriologian laboratorio. Helsinki. Suullinen tiedonanto 25.3.2013 ja 27.6.2013.

Hiltunen, Leena 2009. Validiteetti ja reliabiliteetti. Jyväskylän yliopisto. Verkkodokumentti.
<http://www.mit.jyu.fi/OPE/kurssit/Graduryhma/PDFt/validius_ja_reliabiliteetti.pdf>.
Luettu 2.5.2013.

Hirsjärvi, Sirkka - Remes, Pirkko - Sajavaara, Paula 2005. Tutki ja kirjoita. 11. painos. Jyväskylä. Gummerus. 130–131, 216.

Holopainen, Martti – Pulkkinen, Pekka 2008. Tilastolliset menetelmät. 5.-6. painos. Helsinki. WSOY. 16, 80, 89, 177, 233–234, 242–243.

HUSLAB 2011. Bakteeri, viljely, virtsasta. Tutkimusohjekirja. Verkkodokumentti. <<http://huslab.fi/ohjekirja/1155.html>>. Luettu 13.5.2013.

KvantiMOTV. 2004. Menetelmätietovaranto. Graafinen esitys (kuviot). Päivitetty 20.9.2004. Verkkodokumentti.
<<http://www.fsd.uta.fi/menetelmaopetus/kuviot/kuviot.html>>. Luettu 4.10.2013.

Labqualityn asiantuntijasuositus. Suositus virtsan perustutkimuksia ja bakteeriviljelyä varten. Moodi 7/1999. 19–20, 44–48.

Leskinen, Päivi 2013a. Kuvaileva tilastotiede kurssimateriaali Metropolia ammattikorkeakoulu.

Leskinen, Päivi 2013b. Testit. Tunnusluvut. Riippuvuus yhteenveto + SPSS kurssimateriaali. Metropolia ammattikorkeakoulu.

Lumio, Jukka 2011. Infektiosairaudet. Infektiosairauksien kliiniset oireyhtymät ja erityiskysymykset. Virtsateiden infektiot. Terveysportti. Verkkodokumentti. <[http://www.terveysportti.fi/ezproxy.metropolia.fi/dtk/oppi/koti?p_artikkeli=isa03601&p_haku=staphylococcus % 20saprophyticus](http://www.terveysportti.fi/ezproxy.metropolia.fi/dtk/oppi/koti?p_artikkeli=isa03601&p_haku=staphylococcus%20saprophyticus)>. Luettu 2.9.2013.

Mikrobiologiset vertailukannat 2005. Mittatekniikan keskus. Metrologian neuvottelukunta. Mikrobiologian työryhmä. 1/2005. Helsinki. Verkkodokumentti. <<http://www.mikes.fi/frameset.aspx?url=search.aspx>>. Luettu 13.5.2013.

Mustajoki, Pertti – Kaukua, Jarmo 2008. Virtsan bakteeriviljely (U-BaktVi). Duodecim 2013. Terveyskirjasto. Verkkodokumentti.
<http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk03153>. Luettu 4.5.2013.

Nissinen, Antti 2009. Bakteerien lääkeherkkyyden määrittäminen. Versio 6. Suomalainen mikrobilääkeresistenssin työryhmä-Finnish Study Group for Antimicrobial Resistance. FiRe. Verkkodokumentti.
<<http://www.thl.fi/attachments/Fire/kielkkomenetelma.pdf>>. Luettu 26.4.2013.

Peltola, Joanna. 2010. Kromogeeniset virtsaviiljelymaljat testauksessa keskus- ja yliopistosairaalassa. LabQualitypäivät 2010. Verkkodokumentti. <http://www.labquality.fi/@Bin/2028909/Peltola+J++KROMOGEENISET...> Luettu 27.9.2013.

Rantakokko - Jalava, Kaisu – Anttila, Veli-Jukka 2010. Muut streptokokit, enterokokit ja muita grampositiivisia kokkeja. Teoksessa Hedman, Klaus - Heikkinen, Terho - Huovinen, Pentti - Järvinen, Asko - Meri, Seppo - Martti Vaara, Martti (toim.) 2010. Mikrobiologia. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 1. Helsinki. Kustannus Oy Duodecim: 126–127.

Siitonen, Anja – Vaara, Martti 2010. Escherichia, Salmonella, Shigella ja Yersinia. Teoksessa Hedman, Klaus - Heikkinen, Terho - Huovinen, Pentti - Järvinen, Asko - Meri, Seppo - Martti Vaara, Martti (toim.) 2010. Mikrobiologia. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 1. Helsinki. Kustannus Oy Duodecim: 178.

Suomen Bioanalytikkoliitto ry. 2006. Bioanalytiikon, laboratoriohoitajan eettiset ohjeet. Hyväksytty Suomen Bioanalytikkoliiton liittohallituskokouksessa 1.9.2006 ja liittokokouksessa 18.11.2006.

Suomisanakirja 2013. Sivistyssanakirja. Protokolla. Verkkodokumentti. <<http://www.suomisanakirja.fi/protokolla>>. Luettu 30.9.2013.

Taanila, Aki 2012. Tilastollinen päättely. Verkkodokumentti. <<http://myy.haaga-helia.fi/~taaak/p/paattely.pdf>>. Luettu 4.9.2012.

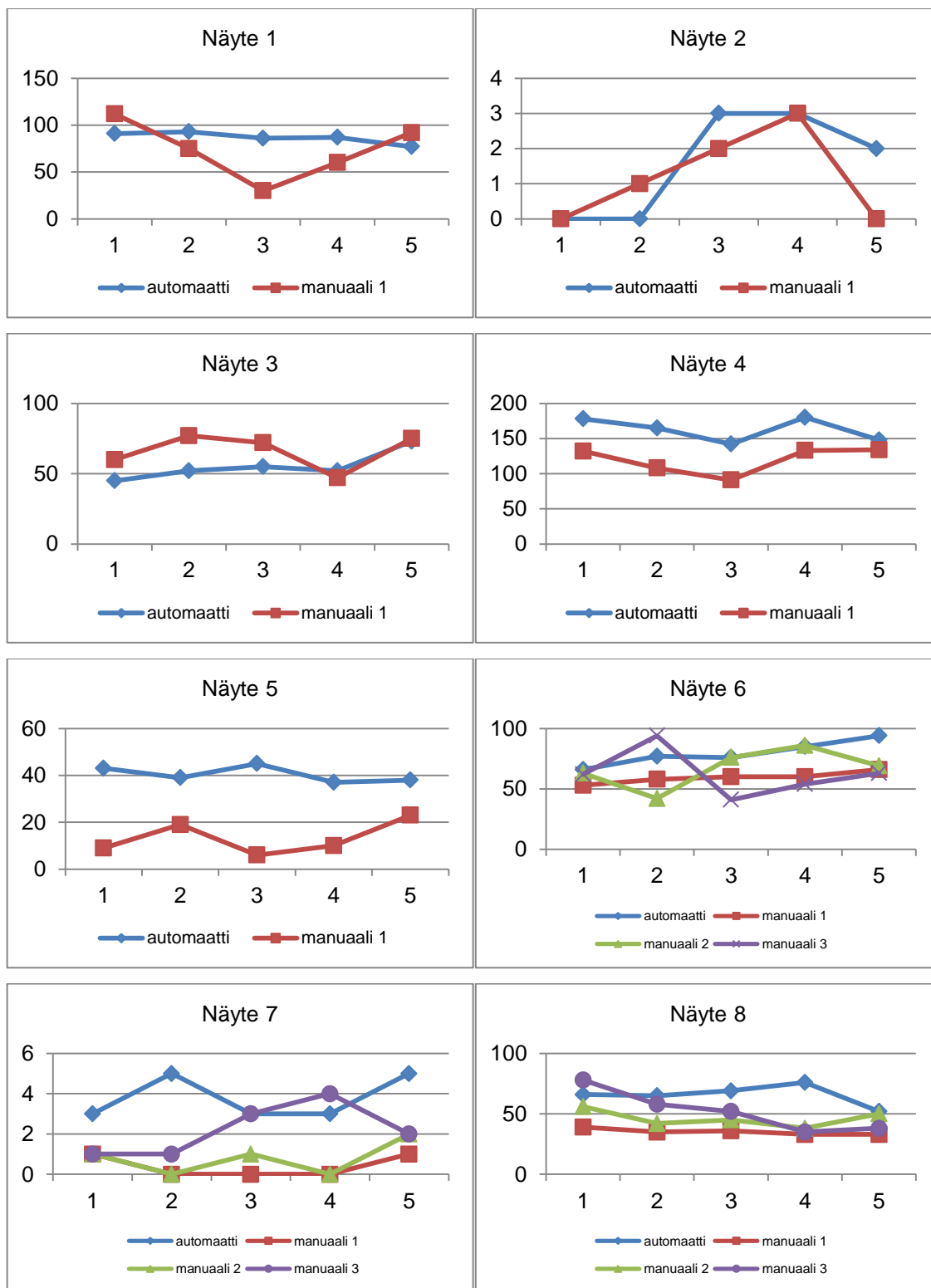
Taanila, Aki 2013. Akin menetelmäblogi. SPSS: Kahden riippuvan otoksen vertailu. Verkkodokumentti. <<http://tilastoapu.wordpress.com/2012/04/27/spss-kahden-riippuvan-otoksen-vertailu/>>. Luettu 4.9.2013.

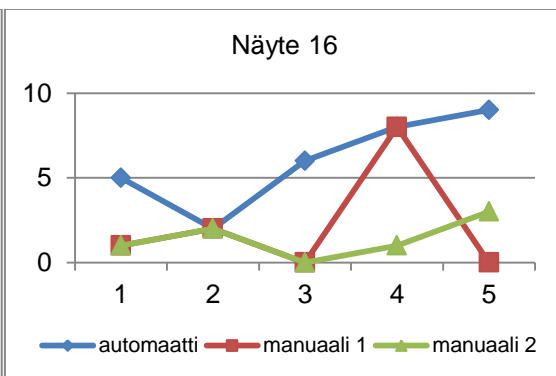
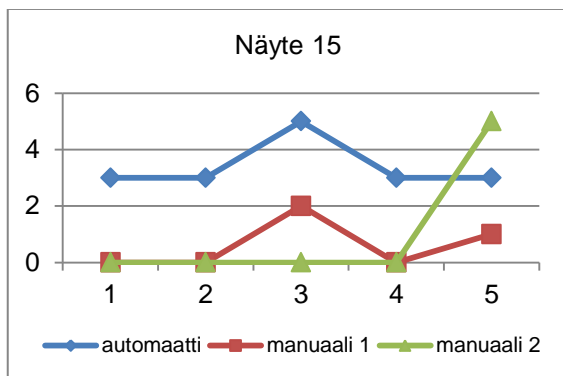
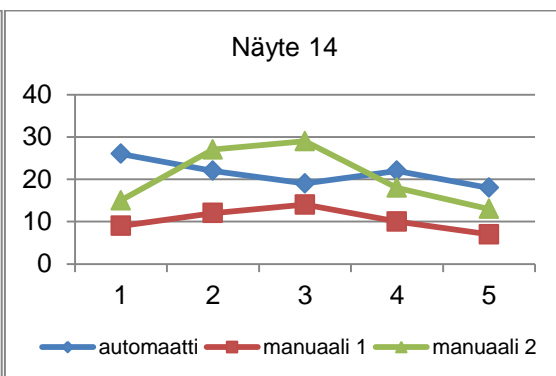
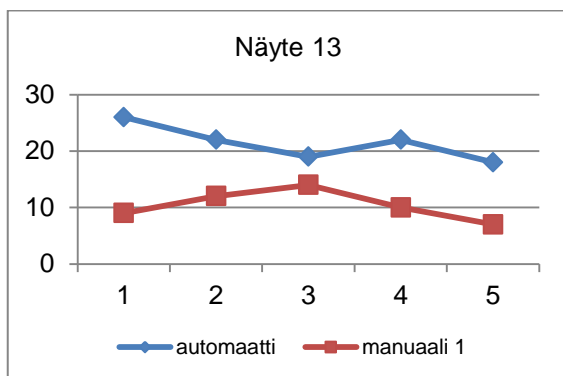
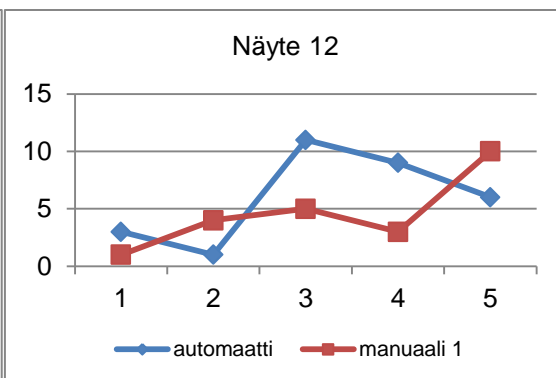
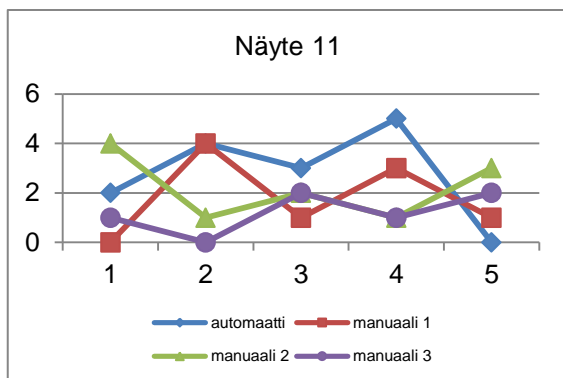
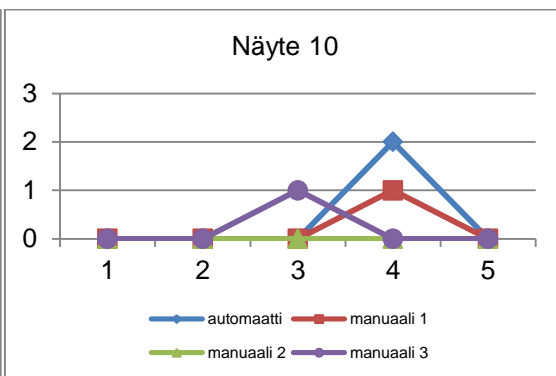
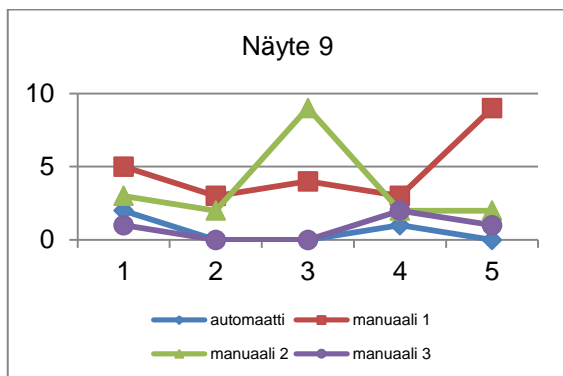
Tissari, Päivi – Anttila, Veli-Jukka 2010. Pseudomonakset, pseudomonaksen kaltaiset sauvat ja akinetobakteerit. Teoksessa Hedman, Klaus - Heikkinen, Terho - Huovinen, Pentti - Järvinen, Asko - Meri, Seppo - Martti Vaara, Martti (toim.) 2010. Mikrobiologia. Mikrobiologia, immunologia ja infektiosairaudet. Kirja 1. Helsinki. Kustannus Oy Duodecim: 200–201.

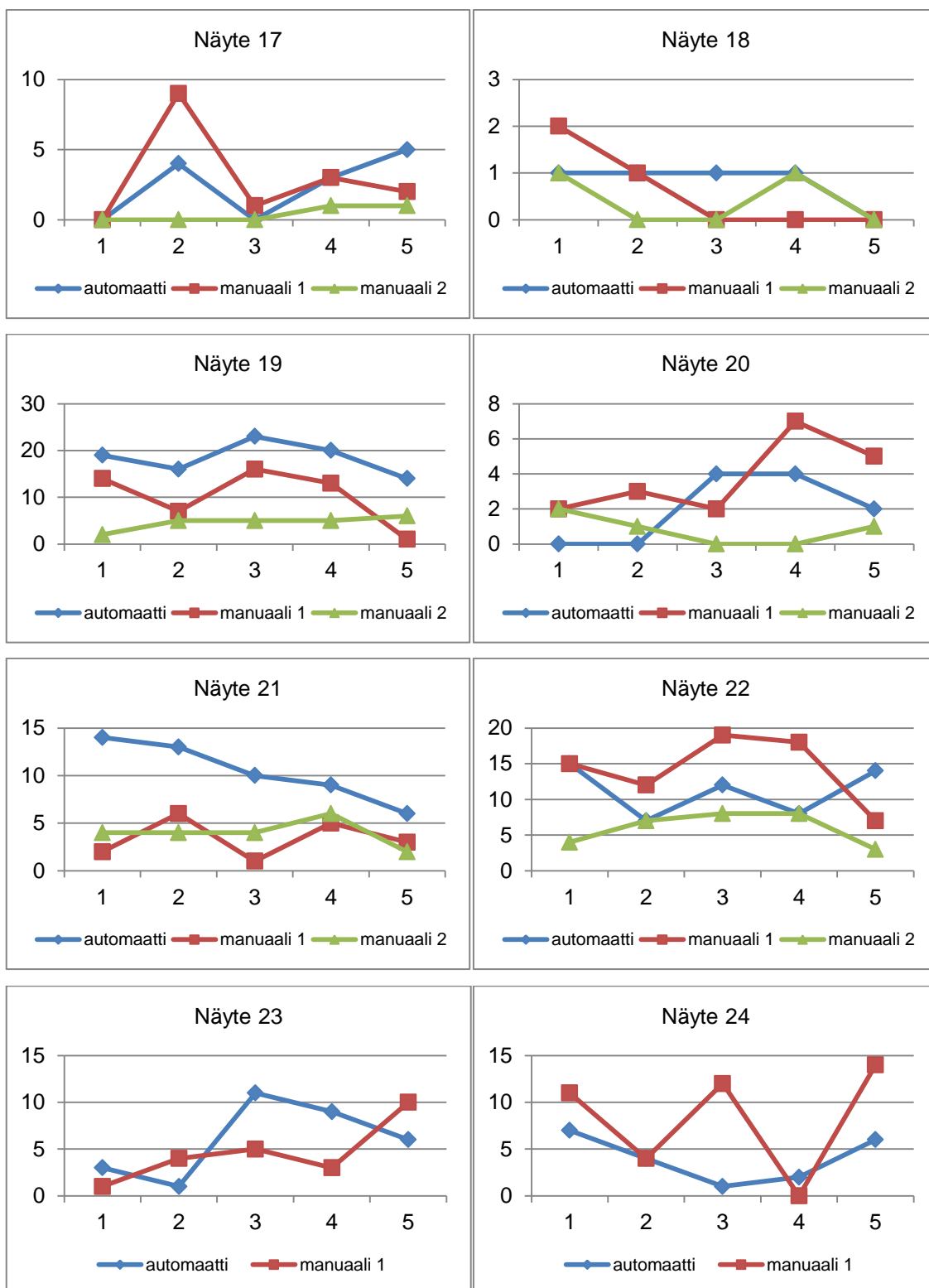
WASP®-Manuaali. Viljelyautomaatin ohje. Copan Diagnostics.

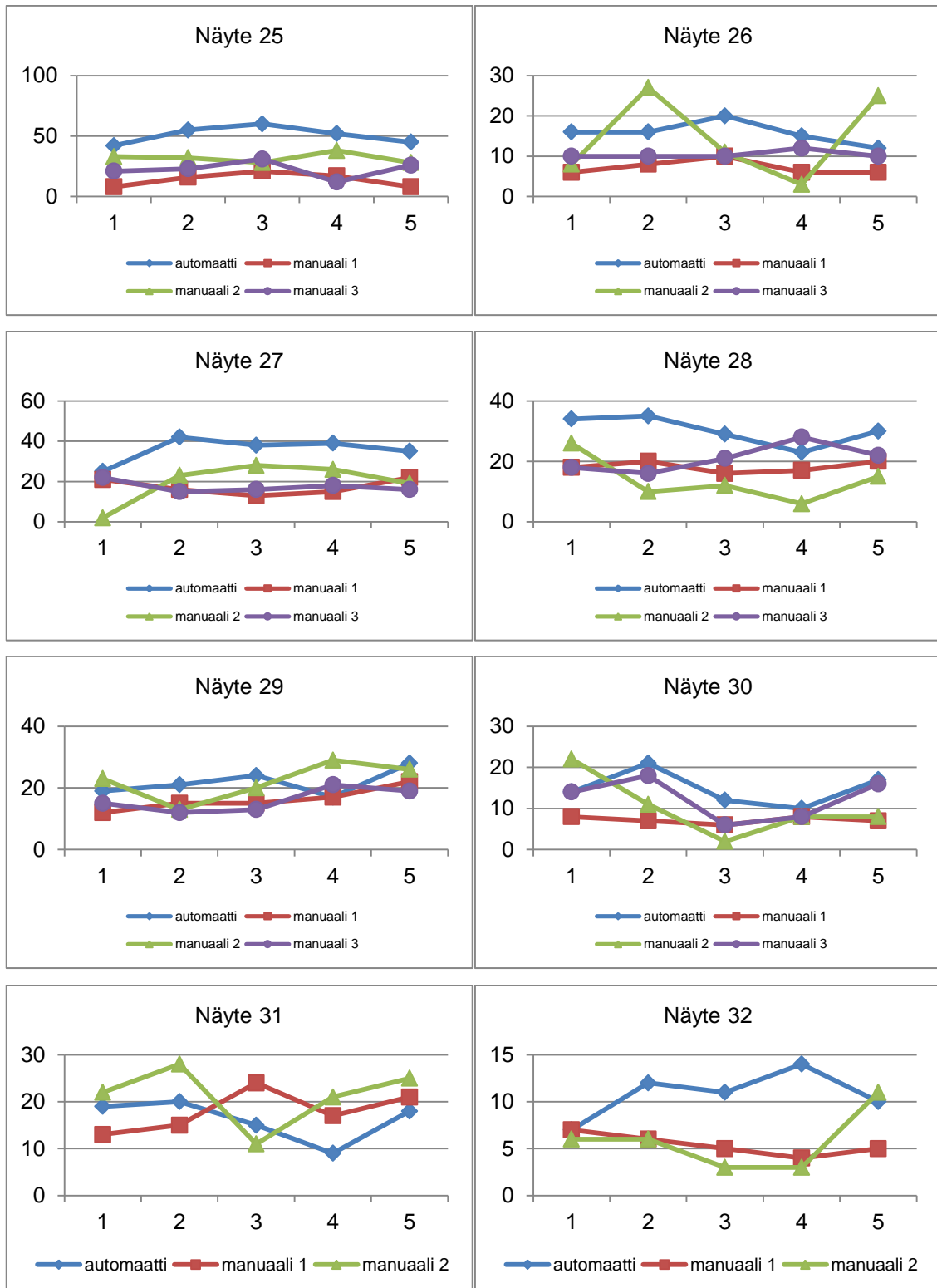
Vuento, Risto – Vuopio, Jaan 2010. Mikrobiologian laboratorion osuus hoitoon liittyvissä infektioissa. Teoksessa Anttila, Veli-Jukka - Hellsten, Soile - Rantala, Arto - Routamaa, Marianne - Syrjälä, Hannu - Vuento, Risto (toim.) Hoitoon liittyvien infektioiden torjunta. Porvoo. Suomen kuntaliitto: 58

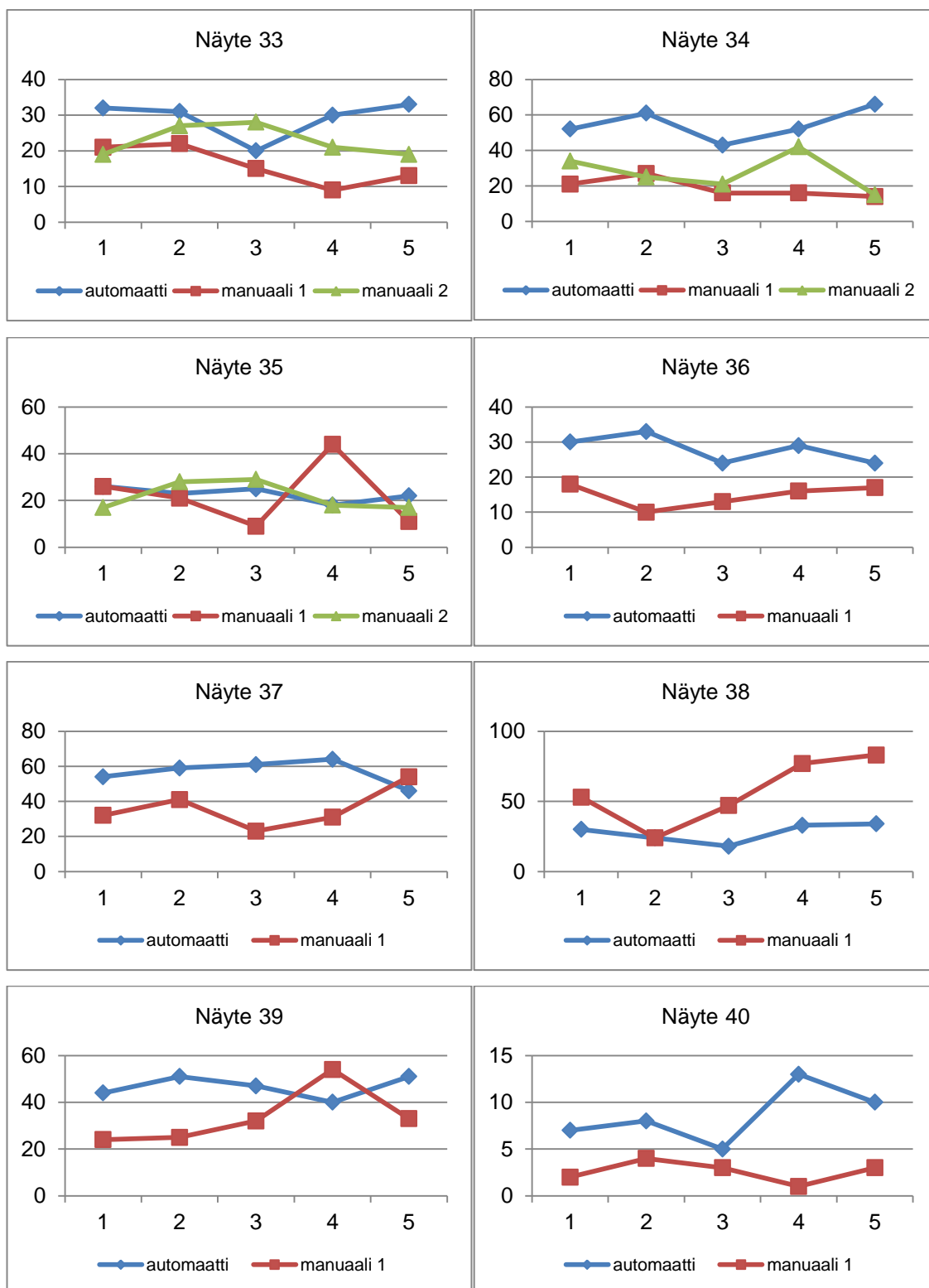
Virtsanäytteiden viivakaaviot

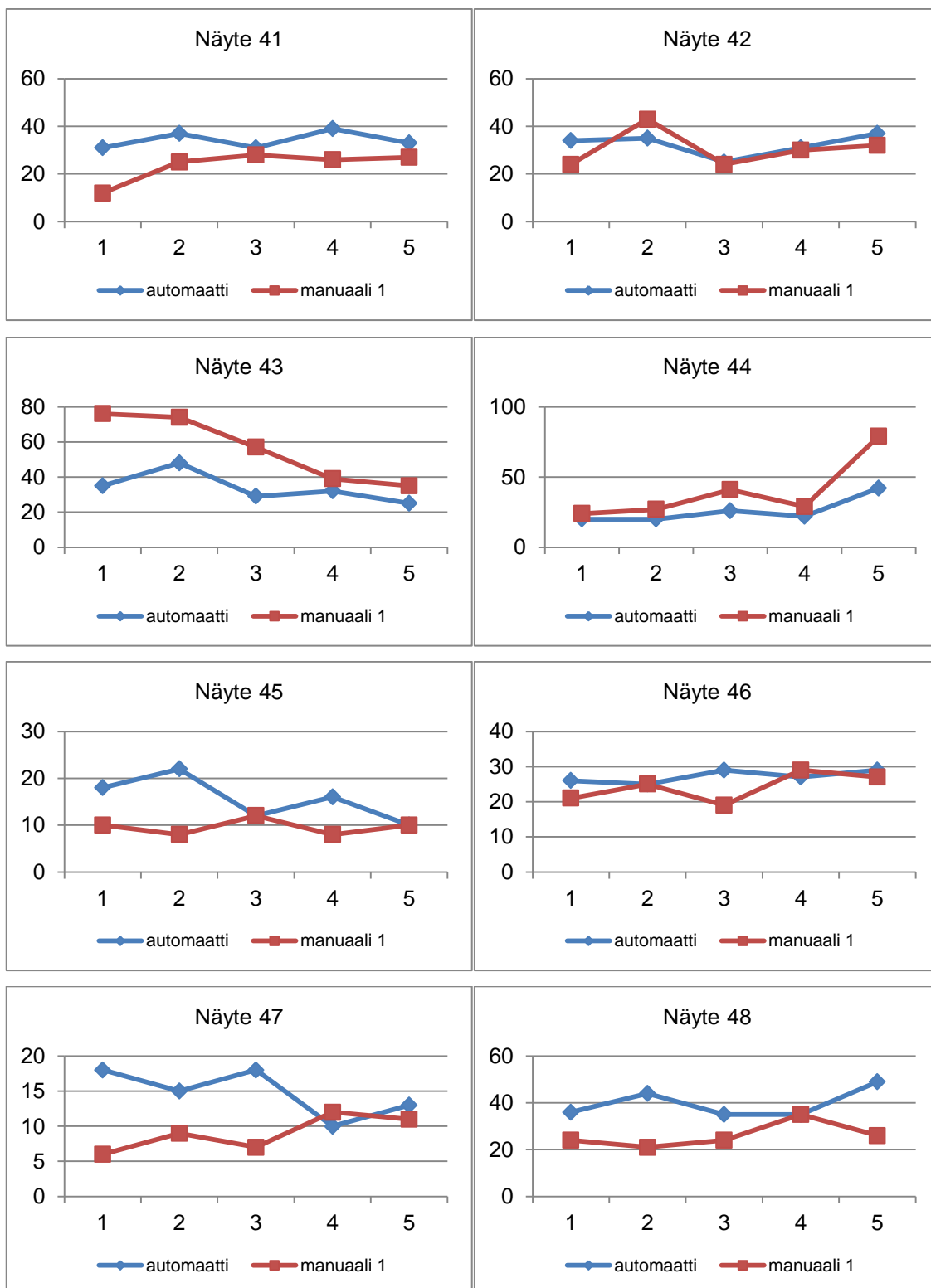


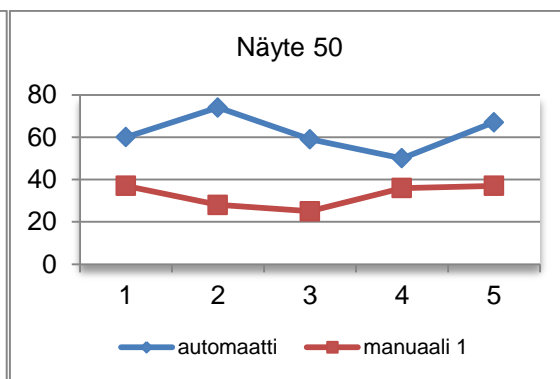
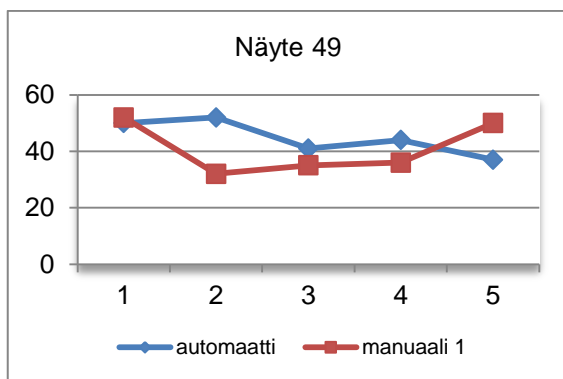




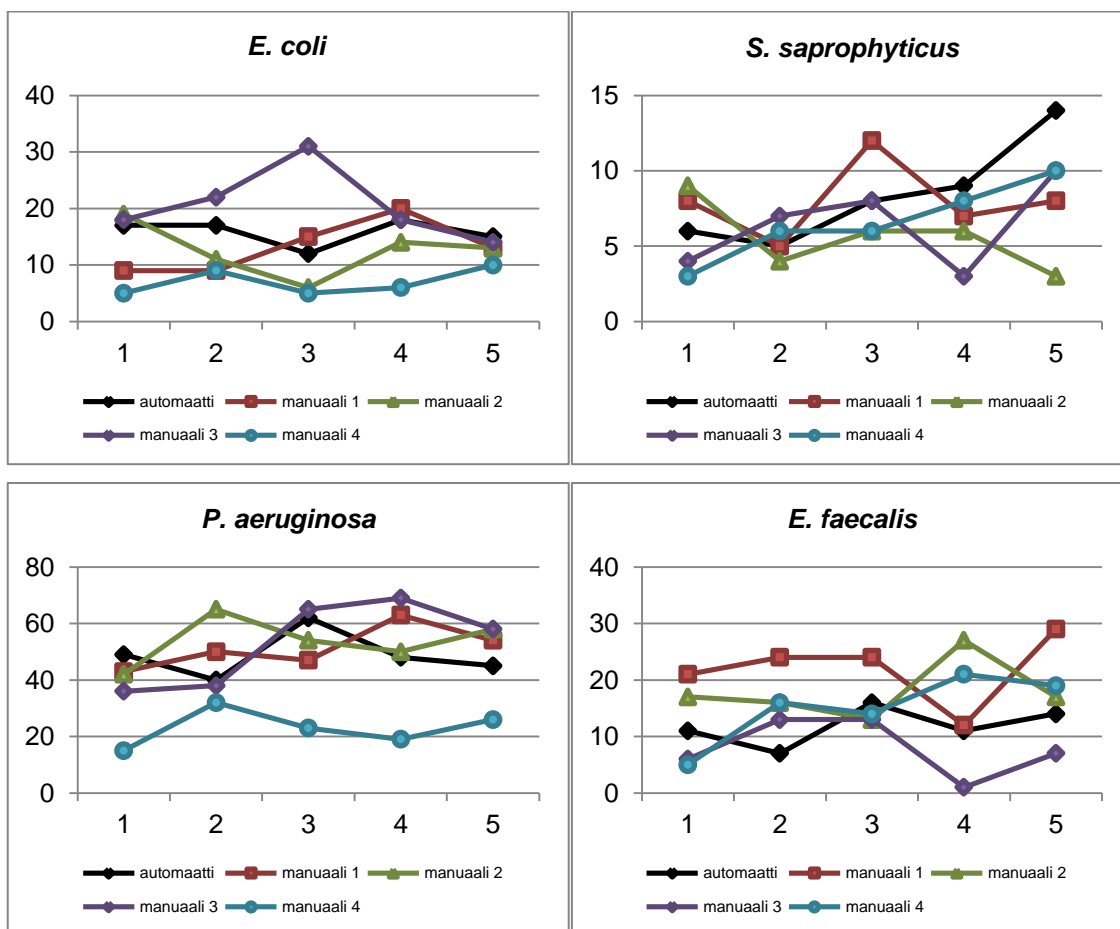








Bakteerikantanäytteiden viivakaaviot



Virtsanäytteiden keskiarvot, keskihajonnat ja variaatiokertoimet

Näyte	autom.	man. 1	man. 2	man. 3	autom.	man. 1	man. 2	man. 3	autom.	man. 1	man. 2	man. 3
Nro	ka	ka	ka	ka	s	s	s	s	CV %	CV %	CV %	CV %
1	86,8	73,8			6,18	31,23			7,12	42,31		
2	1,6	1,2			1,52	1,30			94,79	108,7		
3	55,4	66,2			10,50	12,60			18,96	19,03		
4	162,6	119,6			17,20	19,32			10,58	16,15		
5	40,4	13,4			3,44	7,23			8,50	53,97		
6	79,6	59,4	67,2	62,8	10,50	4,67	16,48	19,54	13,19	7,86	24,53	31,11
7	3,8	0,4	0,8	2,2	1,10	0,55	0,84	1,30	28,83	136,9	104,6	59,27
8	65,6	35,2	46,2	52,2	8,73	2,49	7,01	17,30	13,32	7,07	15,18	33,14
9	38	4,8	3,6	0,8	0,89	2,49	3,05	0,84	2,35	51,87	84,71	104,6
10	0,4	0,2	0	0,2	0,89	0,45	0,00	0,45	223,6	223,6	0,00	223,6
11	3,8	1,8	2,2	1,2	1,92	1,64	1,30	0,84	50,62	91,29	59,27	69,72
12	6	4,6			4,12	3,36			68,72	73,08		
13	4	8,2			2,55	5,93			63,74	72,35		
14	21,4	10,4	20,4		3,13	2,70	7,20		14,63	25,98	35,28	
15	3,4	0,6	1		0,89	0,89	2,24		26,31	149,1	223,61	
16	6	2,2	1,4		2,74	3,35	1,14		45,64	152,1	81,44	
17	2,4	3	0,4		2,30	3,54	0,55		95,92	117,9	136,9	
18	0,8	0,6	0,4		0,45	0,89	0,55		55,90	149,1	136,9	
19	18,4	10,2	4,6		3,51	6,14	1,52		19,06	60,20	32,97	
20	2	3,8	0,8		2,00	2,17	0,84		100,0	57,05	104,6	
21	10,4	3,4	4		3,21	2,07	1,41		30,86	60,99	35,36	
22	11,2	14,2	6		3,56	4,87	2,35		31,82	34,28	39,09	
23	6	4,6			4,12	3,36			68,72	73,08		
24	4	8,2			2,55	5,93			63,74	72,35		
25	50,8	14	31,8	22,6	7,33	5,79	4,15	7,02	14,43	41,34	13,04	31,07
26	15,8	7,2	14,8	10,4	2,86	1,79	10,64	0,89	18,12	24,85	71,89	8,60
27	35,8	17,4	19,6	17,4	6,53	3,91	10,41	2,79	18,25	22,48	53,10	16,05
28	30,2	18,2	13,8	21	4,76	1,79	7,56	4,58	15,78	9,83	54,80	21,82
29	21,8	16,2	22,2	16	4,32	3,70	6,14	3,87	19,84	22,85	27,66	24,21
30	14,8	7,2	10,2	12,4	4,32	0,84	7,36	5,18	29,22	11,62	72,18	41,75
31	16,2	18	21,4		4,44	4,47	6,43		27,40	24,85	30,03	
32	10,8	5,4	5,8		2,59	1,14	3,27		23,97	21,11	56,40	
33	29,2	16	22,8		5,26	5,48	4,38		18,02	34,23	19,22	
34	54,8	18,8	27,4		8,93	5,26	10,69		16,29	28,00	39,02	
35	22,8	22,2	21,8		3,11	14,06	6,14		13,66	63,34	28,17	
36	28	14,8			3,94	3,27			14,06	22,10		
37	56,8	36,2			7,05	11,82			12,41	32,65		
38	27,8	56,8			6,72	23,88			24,18	42,04		
39	46,6	33,6			4,72	12,10			10,13	36,00		
40	8,6	2,6			3,05	1,14			35,46	43,85		
41	34,2	23,6			3,63	6,58			10,62	27,88		
42	32,4	30,6			4,67	7,80			14,41	25,48		
43	33,8	56,2			8,76	19,07			25,91	33,93		
44	26	40			9,27	22,74			35,67	56,84		
45	15,6	9,6			4,77	1,67			30,61	17,43		
46	27,2	24,2			1,79	4,15			6,58	17,14		
47	14,8	9			3,42	2,55			23,11	28,33		
48	39,8	26			6,38	5,34			16,03	20,53		
49	44,8	41			6,22	9,27			13,89	22,62		
50	62	32,6			9,03	5,68			14,56	17,43		

Bakteerikantanäytteiden keskiarvot, keskihajonnat ja variaatiokertoimet

Näyte	automaatti	manuaali 1	manuaali 2	manuaali 3	manuaali 4
	ka	ka	ka	ka	ka
<i>E. coli</i>	15,8	13,2	12,6	20,6	7
<i>S. saprophyticus</i>	8,4	8	5,6	6,4	6,6
<i>P. aeruginosa</i>	48,8	51,4	53,8	53,2	23
<i>E. faecalis</i>	11,8	22	18	8	15
Näyte	automaatti	manuaali 1	manuaali 2	manuaali 3	manuaali 4
	s	s	s	s	s
<i>E. coli</i>	2,39	4,60	6,47	6,47	2,35
<i>S. saprophyticus</i>	3,51	2,55	2,30	2,88	2,61
<i>P. aeruginosa</i>	8,17	7,64	8,61	15,32	6,52
<i>E. faecalis</i>	3,42	6,28	5,29	5,10	6,20
Näyte	automaatti	manuaali 1	manuaali 2	manuaali 3	manuaali 4
	CV %	CV %	CV %	CV %	CV %
<i>E. coli</i>	15,11	34,88	51,31	31,38	33,50
<i>S. saprophyticus</i>	41,75	31,87	41,11	45,02	39,51
<i>P. aeruginosa</i>	16,74	14,85	16,01	28,80	28,34
<i>E. faecalis</i>	28,99	28,57	29,40	63,74	41,37
Näyte	automaatti	manuaali 1	manuaali 2	manuaali 3	manuaali 4
	min	min	min	min	min
<i>E. coli</i>	12	9	6	14	5
<i>S. saprophyticus</i>	5	5	3	3	3
<i>P. aeruginosa</i>	40	43	42	36	15
<i>E. faecalis</i>	7	12	13	1	5
Näyte	automaatti	manuaali 1	manuaali 2	manuaali 3	manuaali 4
	maks	maks	maks	maks	maks
<i>E. coli</i>	18	20	19	31	10
<i>S. saprophyticus</i>	14	12	9	10	10
<i>P. aeruginosa</i>	62	63	65	69	32
<i>E. faecalis</i>	16	29	27	13	21

Virtsanäytteiden alkuperäiset pesäkemäärät sekä viljelyiden minimi- ja maksimiarvot

Näyte	Alkuper.	autom.	man. 1	man. 2	man. 3	autom.	man. 1	man. 2	man. 3
Nro	pesäkemäärä	min	min	min	min	maks	maks	maks	maks
1	88	77	30			93	112		
2	7	0	0			3	3		
3	3	45	47			73	77		
4	15	142	91			180	134		
5	36	37	6			45	23		
6	78	66	53	42	41	94	66	86	94
7	4	3	0	0	1	5	1	2	4
8	80	52	33	38	35	76	39	56	78
9	5	0	3	2	0	2	9	9	2
10	3	0	0	0	0	2	1	0	1
11	13	0	0	1	0	5	4	4	2
12	8	1	1			11	10		
13	5	1	0			7	14		
14	39	18	7	13		26	14	29	
15	5	3	0	0		5	2	5	
16	7	2	0	0		9	8	3	
17	4	0	0	0		5	9	1	
18	4	0	0	0		1	2	1	
19	14	14	1	2		23	16	6	
20	3	0	2	0		4	7	2	
21	18	6	1	2		14	6	6	
22	24	7	7	3		15	19	8	
23	8	1	1			11	10		
24	5	1	0			7	14		
25	55	42	8	28	12	60	21	33	26
26	20	12	6	3	10	20	10	27	12
27	38	25	13	2	15	42	22	28	22
28	36	23	16	6	16	35	20	26	28
29	22	17	12	13	12	28	22	29	21
30	29	10	6	2	6	21	8	22	18
31	15	9	13	11		20	24	28	
32	48	7	4	3		14	7	11	
33	34	20	9	19		33	22	28	
34	67	43	14	15		66	27	42	
35	20	18	14	17		26	44	29	
36	41	24	10			33	18		
37	49	46	32			64	54		
38	58	18	24			34	83		
39	45	40	24			51	54		
40	13	5	1			13	4		
41	56	31	12			39	28		
42	28	25	24			37	43		
43	40	25	35			48	76		
44	27	20	24			42	79		
45	24	10	8			22	12		
46	47	25	19			29	29		
47	18	10	6			18	12		
48	62	35	21			49	35		
49	57	37	32			52	52		
50	64	50	25			74	37		

Kahden riippuvan otoksen vertailutestit (t-testit)

1 (7)

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	WASP	27,9400	250	29,37160	1,85762
	Käsin1	20,9480	250	24,58706	1,55502

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	WASP & Käsin1	250	,839	,000

Paired Samples Test

		Paired Differences						t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference					
					Lower	Upper				
Pair 1	WASP - Käsin1	6,99200	15,99297	1,01148	4,99984	8,98416	6,913	249	,000	

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	käsin1	11,9538	130	13,31483	1,16779
	käsin2	14,2538	130	16,85428	1,47822

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	käsin1 & käsin2	130	,852	,000

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. De- viation	Std. Error Mean	95% Confidence In- terval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 käsini1 - käsini2	-2,30000	8,87960	,77879	-3,84086	-,75914	-2,953	129	,004

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	käsin2	19,3667	60	20,88302	2,69599
	käsin3	18,2667	60	20,76492	2,68074

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 Käsin2 & Käsin3	60	,818	,000

Paired Samples Test

Paired Samples Test										
		Paired Differences						t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. De- viation	Std. Error Mean	95% Confidence In- terval of the Difference					
					Lower	Upper				
Pair 1	käsin2 - käsin3	1,10000	12,56266	1,62183	-2,14528	4,34528	,678	59	,500	

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	käsin1	15,1667	60	16,76171	2,16393
	käsin3	18,2667	60	20,76492	2,68074

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 käsin1 & käsin3	60	,903	,000

Paired Samples Test

Paired Sample Test									
		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. De- viation	Std. Error Mean	95% Confidence In- terval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	käsin1 - käsin3	- 3,10000	9,15534	1,18195	-5,46508	-,73492	-2,623	59	,011

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	WASP_kokki	43,7647	85	37,39737	4,05631
	Käsin_kokki	33,7647	85	32,01363	3,47237

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 WASP_kokki & Käsin_kokki	85	,848	,000

Paired Samples Test

Paired Samples Test										
		Paired Differences						t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. De- viation	Std. Er- ror Mean	95% Confidence Interval of the Dif- ference					
					Lower	Upper				
Pair 1	WASP_kokki - Käsin kokki	10,00000	19,81522	2,14926	5,72596	14,27404	4,653	84	,000	

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	WASP_sauva	36,0286	35	26,63311	4,50182
	Käsin_sauva	23,1143	35	20,07599	3,39346

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 WASP_sauva & Käsin_sauva	35	,759	,000

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. De- viation	Std. Er- ror Mean	95% Confidence Interval of the Dif- ference				
				Lower	Upper			
Pair WASP_sauva - 1 Käsän_sauva	12,91429	17,33641	2,93039	6,95902	18,86955	4,407	34	,000

Paired Samples Statistics

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 WASPka	28,7080	50	28,90896	4,08834
Käsinka	20,9480	50	23,37429	3,30562

Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 WASPka & Käsinka	50	,876	,000

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 WASPka - Käsinka	7,76000	14,08650	1,99213	3,75666	11,76334	3,895	49	,000

Bakteerikantanäytteet:

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	WASP	21,2000	20	17,16974	3,83927
	Käsin1	23,6500	20	17,97154	4,01856

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	WASP & Käsin1	20	,879	,000

Paired Samples Test

Paired Samples Test									
		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
			Std. De- viation	Std. Error Mean	95% Confidence In- terval of the Differ- ence				
					Mean	Lower			
Pair 1	WASP - Käsin1	- 2,45000	8,67832	1,94053	-6,51158	1,61158	-1,263	19	,222

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	WASP	21,2000	20	17,16974	3,83927
	Käsin2	22,5000	20	19,78436	4,42392

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	WASP & Käsin2	20	,893	,000

Paired Samples Test

Paired Samples Test									
		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	WASP - Käsin2	-1,30000	8,90949	1,99222	-5,46977	2,86977	-,653	19	,522

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	WASP	21,2000	20	17,16974	3,83927
	Käsin3	22,0500	20	20,92210	4,67832

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	WASP & Käsin3	20	,914	,000

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	WASP - Käsin3	-,85000	8,71946	1,94973	-4,93083	3,23083	-,436	19	,668

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	WASP	21,2000	20	17,16974	3,83927
	Käsin4	12,9000	20	8,20077	1,83375

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	WASP & Käsin4	20	,675	,001

Paired Samples Test

Paired Samples Test										
			Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
			Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
						Lower	Upper			
Pair 1	WASP - Käsin4	-	8,30000	13,11528	2,93267	2,16186	14,43814	2,830	19	,011

Virtsanäytteiden mittaustulokset

1 (9)

Näyte	Pes.	automaatti	man.1		
1. M403057, UB06866	88	91	112		
13.kesä		93	75		
luettu 14.6		86	30		
Streptokokki B 10 ⁴ -5		87	60		
		77	92		
2. M247277, UE06948	7	0	0		
Stafylokokki 10 ⁴ -5		0	1		
		3	2		
		3	3		
		2	0		
3. W1786032, UC07096	3	45	60		
Morganella morganii 10 ³ -4		52	77		
		55	72		
		52	47		
		73	75		
4. N1439167, UA07273	15	178	132		
14.kesä		165	108		
luettu 15.6		142	91		
Enterococcus faecalis 10 ³ -4		180	133		
		148	134		
5. B856016, UB06919	36	43	9		
Streptococcus agalactiae 10 ⁴ -5		39	19		
		45	6		
		37	10		
		38	23	man. 2	man. 3
6. M195088, UA07710	78	66	53	63	62
25.kesä		77	58	42	94
luettu 26.6		76	60	76	41
Klebsiella pneumoniae 10 ⁴ -5		85	60	86	54
		94	66	69	63

7. M316555, UC07575	4	3	1	1	1
E.coli 10 ³ -4		5	0	0	1
		3	0	1	3
		3	0	0	4
		5	1	2	2
8. M95850, UC07578	80	66	39	56	78
Enterococcus faecalis 10 ⁴ -5		65	35	42	58
		69	36	45	52
		76	33	38	35
		52	33	50	38
9. M984287	5	2	5	3	1
26.kesä		0	3	2	0
luettu 27.6		0	4	9	0
		1	3	2	2
		0	9	2	1
10. B551946	3	0	0	0	0
		0	0	0	0
		0	0	0	1
		2	1	0	0
		0	0	0	0
11. M360320	13	2	0	4	1
		4	4	1	0
		3	1	2	2
		5	3	1	1
		0	1	3	2
12. M857112	8	3	1		
28.kesä		1	4		
luettu 1.7		11	5		
		9	3		
		6	10		

13. M1107650	5	7	11		
		4	4		
		1	12		
		2	0		
		6	14		
14. M1114661	39	26	9	15	
27. kesä		22	12	27	
luettu 28.6		19	14	29	
		22	10	18	
		18	7	13	
15. N138855	5	3	0	0	
		3	0	0	
		5	2	0	
		3	0	0	
		3	1	5	
16. M892291	7	5	1	1	
		2	2	2	
		6	0	0	
		8	8	1	
		9	0	3	
17. M461215	4	0	0	0	
		4	9	0	
		0	1	0	
		3	3	1	
		5	2	1	
18. M1363363	4	1	2	1	
		1	1	0	
		1	0	0	
		1	0	1	
		0	0	0	

19. M2036755	14	19	14	2	
		16	7	5	
		23	16	5	
		20	13	5	
		14	1	6	
20. M933764	3	0	2	2	
		0	3	1	
		4	2	0	
		4	7	0	
		2	5	1	
21. M1094431	18	14	2	4	
		13	6	4	
		10	1	4	
		9	5	6	
		6	3	2	
22. M579040	24	15	15	4	
		7	12	7	
		12	19	8	
		8	18	8	
		14	7	3	
23. M857112	8	3	1		
28. kesä		1	4		
luettu 1.7		11	5		
		9	3		
		6	10		
24. M1107650	5	7	11		
		4	4		
		1	12		
		2	0		
		6	14		

25. M493512, UB07691	55	42	8	33	21
2.heinä		55	16	32	23
luettu 3.7		60	21	28	31
E.coli 10 ⁴ -5		52	17	38	12
		45	8	28	26
26. M464574	20	16	6	8	10
		16	8	27	10
		20	10	11	10
		15	6	3	12
		12	6	25	10
27. M621228	38	25	21	2	22
		42	16	23	15
		38	13	28	16
		39	15	26	18
		35	22	19	16
28. M603132	36	34	18	26	18
		35	20	10	16
		29	16	12	21
		23	17	6	28
		30	20	15	22
29. M1651665	22	19	12	23	15
		21	15	13	12
		24	15	20	13
		17	17	29	21
		28	22	26	19
30. B1029972	29	14	8	22	14
		21	7	11	18
		12	6	2	6
		10	8	8	8
		17	7	8	16

31. M1285928, UA08102	15	19	13	22	
3.heinä		20	15	28	
luettu 4.7		15	24	11	
E. coli 10 ⁴ -5		9	17	21	
		18	21	25	
32. N901278, UA08111	48	7	7	6	
Klebsiella pneumoniae 10 ⁴ -5		12	6	6	
		11	5	3	
		14	4	3	
		10	5	11	
33. M158710, UB07762	34	32	21	19	
Enterococcus faecalis 10 ⁴ -5		31	22	27	
		20	15	28	
		30	9	21	
		33	13	19	
34. M1264644	67	52	21	34	
		61	27	25	
		43	16	21	
		52	16	42	
		66	14	15	
35. M1353398	20	26	26	17	
		23	21	28	
		25	9	29	
		18	44	18	
		22	11	17	
36. S1488157, UA08173	41	30	18		
4.heinä		33	10		
luettu 5.7		24	13		
Enterococcus faecalis 10 ⁴ -5		29	16		
		24	17		

37. M1587348, UB07828	49	54	32		
Klebsiella oxytoca 10 ⁴ -5		59	41		
		61	23		
		64	31		
		46	54		
38. M142955	58	30	53		
		24	24		
		18	47		
		33	77		
		34	83		
39. M1069554, UA08233	45	44	24		
5.heinä		51	25		
luettu 8.7		47	32		
Enterococcus faecalis 10 ⁴ -5		40	54		
		51	33		
40. M899160, UC08075	13	7	2		
Streptococcus agalactiae (B) 10 ⁴ -5		8	4		
		5	3		
		13	1		
		10	3		
41. M1606080, UE07920	56	31	12		
E. coli 10 ⁴ -5		37	25		
		31	28		
		39	26		
		33	27		
42. M843366	28	34	24		
		35	43		
		25	24		
		31	30		
		37	32		

43. M363917, UD08162	40	35	76		
9.heinä		48	74		
luettu 10.7		29	57		
Staphylococcus saprophyticus 10 ⁴ -5		32	39		
		25	35		
44. W1949795, UE08066	27	20	24		
Enterococcus faecalis 10 ⁴ -5		20	27		
		26	41		
		22	29		
		42	79		
45. M604046, UA08392	24	18	10		
ihan pieniä pesäkkeitä		22	8		
Streptococcus viridans 10 ⁴ -5		12	12		
		16	8		
		10	10		
46. B212918, UC08223	47	26	21		
ihan pieniä pesäkkeitä		25	25		
Difteroidi 10 ⁴ -5		29	19		
		27	29		
		29	27		
47. M2061457, UC08226	18	18	6		
Streptococcus agalactiae 10 ⁴ -5		15	9		
		18	7		
		10	12		
		13	11		
48. B572682, UD08229	62	36	24		
10.heinä		44	21		
luettu 11.7		35	24		
Streptococcus agalactiae 10 ⁴ -5		35	35		
		49	26		

49. M1566913, UD08230	57	50	52		
E. coli 10 ⁴ -5		52	32		
		41	35		
		44	36		
		37	50		
50. M73443, UC08290	64	60	37		
Enterococcus faecalis 10 ⁴ -5		74	28		
		59	25		
		50	36		
		67	37		

Bakteerikantanäytteiden mittaustulokset

Näyte	automaatti	man. 1	man. 2	man. 3	man. 4
<i>E. coli</i> 0,51	17	9	19	18	5
	17	9	11	22	9
	12	15	6	31	5
	18	20	14	18	6
	15	13	13	14	10
<i>S. saprophyticus</i> 0,51	6	8	9	4	3
	5	5	4	7	6
	8	12	6	8	6
	9	7	6	3	8
	14	8	3	10	10
<i>P. aeruginosa</i> 0,51	49	43	42	36	15
	40	50	65	38	32
	62	47	54	65	23
	48	63	50	69	19
	45	54	58	58	26
<i>E. faecalis</i> 0,49	11	21	17	6	5
	7	24	16	13	16
	16	24	13	13	14
	11	12	27	1	21
	14	29	17	7	19